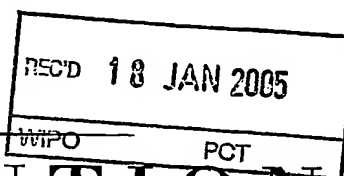


25 OCT. 2004



# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 16 SEP. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr



# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITE

26bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 Paris Cédex 08  
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livre VI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B 14427 EE DD 2591	

<b>1 NATURE DE LA DEMANDE</b>	
Demande de brevet	
<b>2 TITRE DE L'INVENTION</b>	
	DISPOSITIF DE TRAVAIL COMPRENANT UNE ZONE LOCALISEE DE CAPTURE D'UNE GOUTTE D'UN LIQUIDE D'INTERET
<b>3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE</b>	Pays ou organisation      Date      N°
<b>4-1 DEMANDEUR</b>	
Nom Rue Code postal et ville Pays Nationalité Forme juridique	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE 31-33, rue de la Fédération 75752 PARIS 15ème France France Etablissement Public de Caractère Scientifique, technique et Ind
<b>4-2 DEMANDEUR</b>	
Nom Rue Code postal et ville Pays Nationalité Forme juridique	BIOMÉRIEUX SA Chemin de l'Orme 69280 MARCY L'ÉTOILE France France Société anonyme

<b>5A MANDATAIRE</b>				
Nom	LEHU			
Prénom	Jean			
Qualité	Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068			
Cabinet ou Société	BREVATOME			
Rue	3, rue du Docteur Lancereaux			
Code postal et ville	75008 PARIS			
N° de téléphone	01 53 83 94 00			
N° de télécopie	01 45 63 83 33			
Courrier électronique	brevets.patents@brevalex.com			
<b>6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS</b>		Fichier électronique	Pages	Détails
Texte du brevet		textebrevet.pdf	73	D 62, R 10, AB 1
Dessins		dessins.pdf	4	page 4, figures 9, Abrégé: page 1, Fig.1
Désignation d'inventeurs				
Pouvoir général				
<b>7 MODE DE PAIEMENT</b>				
Mode de paiement		Prélèvement du compte courant		
Numéro du compte client		024		
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>				
Établissement immédiat				
<b>9 REDEVANCES JOINTES</b>		Devise	Taux	Quantité
062 Dépôt		EURO	0.00	1.00
063 Rapport de recherche (R.R.)		EURO	320.00	1.00
068 Revendication à partir de la 11ème		EURO	15.00	32.00
Total à acquitter		EURO		800.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Émetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



## BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

### Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : X

Demande de CU :

<b>DATE DE RECEPTION</b>	31 octobre 2003	
<b>TYPE DE DEPOT</b>	INPI (PARIS) - Dépôt électronique	Dépôt en ligne: X
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI</b>	0350764	Dépôt sur support CD:
<b>Vos références pour ce dossier</b>	B 14427 EE DD 2591	

#### DEMANDEUR

Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	2
Pays	FR

#### TITRE DE L'INVENTION

DISPOSITIF DE TRAVAIL COMPRENANT UNE ZONE LOCALISEE DE CAPTURE D'UNE GOUTTE D'UN LIQUIDE D'INTERET
--

#### DOCUMENTS ENVOYES

package-data.xml	Requetefr.PDF	fee-sheet.xml
Design.PDF	ValidLog.PDF	textebrevet.pdf
FR-office-specific-info.xml	application-body.xml	request.xml
dessins.pdf	indication-bio-deposit.xml	

#### EFFECTUE PAR

Effectué par:	J. Lehu
Date et heure de réception électronique:	31 octobre 2003 15:54:23
Empreinte officielle du dépôt	F2:D9:63:7C:7F:2B:3F:D9:B8:3E:8D:FB:14:A4:F7:36:9B:2E:30:8B

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL  
INSTITUT 28 bis, rue de Saint Petersburg  
NATIONAL DE 75600 PARIS cedex 08  
LA PROPRIETE Téléphone : 01 53 04 53 04  
INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 03 53 90

**DISPOSITIF DE TRAVAIL COMPRENANT UNE ZONE LOCALISEE DE  
CAPTURE D'UNE GOUTTE D'UN LIQUIDE D'INTERET**

**Domaine technique**

5           La présente invention se rapporte à un dispositif de travail, à une plaquette, à un système et à une puce comprenant des zones localisées de capture d'une goutte d'un liquide d'intérêt.

10           La présente invention permet d'obtenir une matrice de gouttes localisées, à haute densité, sur une surface, à partir d'un liquide d'intérêt. Elle permet par exemple d'assurer facilement la transition d'une chambre fluïdique fermée et remplie par un liquide d'intérêt à une matrice de gouttes, ou micro-volumes,  
15           parfaitement localisées sur une surface placée dans ladite chambre fluïdique, lorsque le liquide d'intérêt est évacué de ladite chambre fluïdique.

          Par matrice de gouttes, on entend un arrangement déterminé desdites gouttes, sans qu'une  
20           forme géométrique particulière dudit arrangement soit exigée. La matrice de gouttes peut être ronde, carrée, polygonale et même aléatoire, l'essentiel étant que les gouttes formées soient disposées de manière localisée et déterminée sur la surface conformément à l'objectif  
25           atteint par la présente invention. Par localisée, on entend circonscrite, individualisée et distincte des autres gouttes capturées volontairement sur ladite surface grâce au dispositif de l'invention.

          Chacune des gouttes peut être soumise à une ou  
30           plusieurs opérations destinées à analyser qualitativement et/ou quantitativement un ou plusieurs

analyte(s) présent(s) ou susceptible(s) d'être présent(s) dans le liquide d'intérêt, par exemple une molécule, un oligonucléotide, une protéine, etc. L'analyse des analytes dans la goutte peut être  
5 réalisée par toute technique connue de l'homme du métier pour effectuer des analyses, en particulier dans un volume de liquide aussi réduit qu'une goutte. Il peut s'agir des techniques d'analyse utilisées sur les puces biologiques. L'analyse peut ou non faire  
10 intervenir la surface du dispositif de l'invention recouverte par la goutte, suivant la mise en œuvre de la présente invention.

Chacune des gouttes forme un volume dans lequel des réactions chimiques ou biochimiques peuvent être  
15 réalisées. Toute réaction chimique ou biochimique connue de l'homme du métier peut être réalisée dans ce volume. Ces réactions peuvent ou non faire intervenir la surface du dispositif de l'invention recouverte par la goutte, suivant la mise en œuvre de la présente  
20 invention. Lorsque ces réactions font intervenir la surface du dispositif de l'invention recouverte par la goutte, elles peuvent le faire avec une seule goutte ou plusieurs gouttes déposées successivement sur cette surface, ces gouttes successives étant constituées d'un  
25 seul ou de plusieurs liquides d'intérêt différents suivant la mise en œuvre de la présente invention. Un exemple de réactions chimiques faisant intervenir deux liquides d'intérêt différents sur un dispositif de l'invention est le suivant : au moyen d'une goutte d'un  
30 premier liquide d'intérêt, dépôt localisé d'un film d'un polymère organique sur la surface couverte par

cette goutte, puis, au moyen d'une goutte d'un deuxième liquide d'intérêt, fonctionnalisation du film polymère organique déposé sur cette surface.

Selon la présente invention, analyse(s) et  
5 réaction(s) chimique(s)/biochimique(s) peuvent être  
mises en œuvre de manière exclusive sur un dispositif  
conforme à la présente invention (analyse ou réaction),  
ou de manière complémentaire. Dans ce dernier cas, cela  
peut être simultanément (réaction et analyse) ou  
10 successivement (réaction puis analyse ou analyse puis  
réaction). En outre, plusieurs analyses et/ou plusieurs  
réactions peuvent se succéder. Par exemple, le  
dispositif de la présente invention peut  
avantageusement intervenir, d'une part dans la  
15 fabrication d'une carte, ou laboratoire sur puce (par  
exemple par des réactions chimiques permettant de  
déposer un polymère, puis de le fonctionnaliser)  
(« lab-on-chip »), dans laquelle toutes les étapes  
nécessaires aux analyses qualitatives et quantitatives  
20 d'un liquide d'intérêt sont intégrées : manipulation de  
fluide, réactions chimiques et/ou biochimiques, puce de  
détection optique, électrique et/ou chimique, etc. ; et  
d'autre part dans l'utilisation de cette carte, ou  
laboratoire sur puce, pour effectuer des analyses  
25 qualitatives et/ou quantitatives dans des gouttes d'un  
liquide d'intérêt à analyser (réaction(s)  
chimique(s)/biochimique(s) et analyse).

Compte tenu de ces très nombreuses  
applications, le dispositif de la présente invention  
30 est appelé dans la présente « dispositif de travail ».

Dans la présente description, les références entre crochets [ ] renvoient à la liste de références annexée.

## 5 Art antérieur

Aucune antériorité n'a été relevée sur le principe de la présente invention. Toutefois, selon les applications envisagées, cette invention se rapproche de plusieurs domaines précis : formation de gouttes,  
10 travail en micro-volume(s), matrices à haute densité de gouttes ou plots.

La formation de zones localisées pour isoler une phase liquide est répandue dans le domaine des puces biologiques, et notamment des puces à ADN. Pour  
15 ces applications, le volume réactionnel est souvent très réduit pour économiser les produits biologiques et les réactifs.

Pour la formation de gouttes localisées et de matrices à haute densité de gouttes, les sociétés  
20 Protogene Laboratories Inc. [1] et Affymetrix Inc. [2] ont séparément développé des méthodes pour créer des zones hydrophiles au milieu d'une surface hydrophobe. La phase aqueuse d'intérêt est ensuite déposée sous forme de micro-gouttes par un système de dispense  
25 automatisé. Ces méthodes conduisent à la formation reproductible de gouttes et de matrices à haute densité de plots ou de gouttes.

Cependant, elles nécessitent toutes l'utilisation d'un système de dispense de gouttes  
30 incluant un dispositif de déplacement et d'alignement précis, ainsi qu'un dispositif pour l'alimentation en



liquide. Le coût de cet appareillage est élevé. En outre, la densité maximale des matrices est limitée par une combinaison entre la taille des gouttes dispensées et le pas minimal inter-plots du système de dispense.

5 Enfin, les zones hydrophiles décrites dans ces documents sont toujours des disques dont la surface représente également la zone de travail. De plus, ces systèmes ne sont pas utilisables dans le cadre d'une mesure ou d'une fonctionnalisation par voie électrique  
10 car ces dispositifs n'ont pas d'électrode.

Pour la formation de matrices à haute densité de micro-cuvettes, deux exemples significatifs peuvent être cités : la formation d'un réseau de cuvettes micro-fabriquées par gravure dans une plaque de  
15 silicium pour réaliser des amplifications d'ADN par PCR en micro-volumes de quelques picolitres, et la formation de puits ou de canaux par photolithographie sur des résines photosensibles déposées sur un substrat en plastique [3]. Avec ces techniques, le nombre de  
20 puits varie de 100 à 9600 puits, avec des diamètres de 60 à 500  $\mu\text{m}$  et des profondeurs de 5 à 300  $\mu\text{m}$ .

Cependant, les bords de ces cuvettes ne laissant pas de séparation physique entre la phase liquide au sein de la cuvette et celle à l'extérieur,  
25 autorisent donc des connexions entre les cuvettes, et donc des contaminations entre elles.

Une des applications les plus importantes de la présente invention est la détection électrique ou électrochimique de molécules biologiques présentes dans  
30 un liquide d'intérêt avec amplification du signal par accumulation enzymatique.

En ce qui concerne la détection électrique ou électrochimique de tests biologiques, un grand nombre de systèmes de détection électrique ou électrochimiques décrits dans la littérature ne permet pas de descendre sous le nanomolaire en termes de limite de détection, limitation souvent due au faible nombre d'électrons générés par chaque hybride.

Les systèmes faisant intervenir une accumulation enzymatique permettent d'abaisser cette limite de détection aux environs du picomolaire du fait de l'amplification élevée du nombre d'espèces rédox à détecter présentes dans le milieu réactionnel [4]. Cependant, cette méthode d'amplification engendre un problème pour les systèmes multiplots connus actuellement car le composé rédox diffuse et peut ainsi contaminer les plots voisins. Pour éviter ce problème, il est donc nécessaire de confiner chaque plot.

Dans ce but, la plupart du temps, l'utilisation de structures tridimensionnelles (utilisation de compartiments) est recommandée dans la littérature. Par exemple, Infineon [6] propose des murs en polymères et un système de migration des molécules par des forces électriques, de manière à les confiner dans un volume défini et à éviter ainsi la contamination inter-plots. Malheureusement, des problèmes de remplissage fluide peuvent être rencontrés avec ce genre d'approche lorsqu'on souhaite par exemple travailler en veine liquide très fine. Là aussi, un dispensateur de goutte devient indispensable.

Il existe donc un réel besoin d'un dispositif permettant d'obtenir aisément une matrice de gouttes

haute densité à partir d'un liquide d'intérêt, utilisable sans aucun appareillage de dispense de gouttes, facile à fabriquer, permettant d'éviter efficacement des contaminations entre les gouttes, et  
 5 qui peut être utilisé de manière très souple avec tous les procédés actuellement connus de l'homme du métier pour analyser collectivement ou individuellement des micro-volumes, par exemple sur un laboratoire sur puce, qu'il s'agisse d'un procédé chimique, électrique ou  
 10 optique ou d'une combinaison de ces procédés.

#### **Exposé de l'invention**

La présente invention répond précisément à ce besoin, et à d'autres encore, expliqués ci-dessous, en  
 15 fournissant un dispositif de travail comprenant :

- un substrat comportant une surface active sensiblement non mouillante vis-à-vis d'un liquide d'intérêt,

- au moins une zone de capture localisée  
 20 d'une goutte dudit liquide d'intérêt formée sur ladite surface active,

- au moins une zone de travail arrangée avec la zone de capture de telle manière que la zone de travail soit recouverte au moins partiellement par la  
 25 "goutte" du liquide d'intérêt lorsque celle-ci est capturée par ladite zone de capture,

- des moyens d'approvisionnement en liquide d'intérêt permettant de laisser une goutte dudit liquide d'intérêt sur ladite zone de capture.

30 La présente invention répond encore à ce besoin, en fournissant une plaquette de travail

comprenant plusieurs dispositifs de travail conformes à la présente invention, identiques ou différents dans leur mode de réalisation.

5 La présente invention répond encore à ce besoin en fournissant une puce biologique comprenant un dispositif de travail selon l'invention ou une plaquette selon l'invention.

10 La présente invention répond encore à ce besoin en fournissant un système comprenant un ou plusieurs dispositif(s) de travail selon l'invention.

La présente invention répond encore à ce besoin en fournissant une boîte de travail comprenant :

15 - un conteneur comprenant des moyens pour l'introduction d'un liquide d'intérêt dans ce conteneur et d'extraction du liquide d'intérêt de ce conteneur,  
- un dispositif de travail selon l'invention ou une plaquette selon l'invention, placé(e) dans ledit conteneur,

20 les moyens d'introduction et d'extraction du liquide d'intérêt du conteneur étant disposés de telle manière que lorsque le liquide d'intérêt est introduit dans le conteneur, il couvre la, au moins une, zone(s) de capture, puis lorsque le liquide d'intérêt est extrait du conteneur, une goutte dudit liquide  
25 d'intérêt reste captive par ladite zone de capture.

La présente invention répond encore à ce besoin en fournissant un système comprenant une boîte de travail selon l'invention.

30 Dans le contexte de la présente invention, un liquide est dit « d'intérêt » dès lors que ce liquide

est destiné à être capturé par une ou plusieurs zone de capture d'un dispositif selon l'invention, par exemple pour former une matrice de gouttes de ce liquide.

Par « liquide d'intérêt », on entend tout  
5 liquide susceptible de nécessiter une disposition en matrice de gouttes sur un support, par exemple dans un but analytique et/ou chimique et/ou biochimique. Par « but chimique et/ou biochimique », on entend toute réaction chimique et/ou biochimique qui peut être  
10 réalisée dans un liquide. Par « but analytique », on entend toute analyse qualitative et/ou quantitative qui peut être réalisée dans un liquide.

Le liquide d'intérêt peut être organique ou aqueux. Il peut s'agir d'un quelconque des liquides  
15 actuellement manipulés en laboratoire ou dans l'industrie, par exemple sur des laboratoires sur puce. Il peut s'agir par exemple d'un liquide choisi parmi une solution, un solvant, un réactif, un échantillon, un extrait cellulaire, un prélèvement provenant d'un  
20 organisme animal ou végétal, un prélèvement effectué dans la nature ou dans l'industrie, etc. Il peut s'agir d'un liquide biologique ou chimique. Ce liquide d'intérêt peut être un liquide dilué, si nécessaire, pour son utilisation avec le dispositif de la présente  
25 invention, comme cela peut se faire sur les laboratoires sur puce. Un produit solide peut être mis en solution pour constituer un liquide d'intérêt au sens de la présente invention. Ce produit solide peut être choisi par exemple parmi un produit chimique ou  
30 biochimique, un réactif, un matériau à analyser, un prélèvement provenant d'un organisme animal ou végétal,

un prélèvement effectué dans la nature ou dans l'industrie, etc. L'homme du métier connaît la manipulation de tels produits et liquides d'intérêt.

Le substrat du dispositif de travail de l'invention constitue en fait le support sur lequel est formée la surface active, la, au moins une, zone de capture, et la, au moins une, zone de travail. Il peut être constitué de tout matériau approprié pour mettre en œuvre la présente invention. Il peut s'agir par exemple d'un des matériaux de base utilisés pour fabriquer les laboratoires sur puce, puces biologiques, microsystèmes, etc. Il peut s'agir par exemple d'un matériau choisi dans le groupe constitué du silicium ; de l'oxyde de silicium ; du verre ; du nitrure de silicium ; des polymères, par exemple des polymères organiques tels que ceux choisis dans le groupe comprenant les polycarbonates, les polydiméthylsiloxanes, les polyméthylmétacrylates, les polychlorobiphényles et les copolymères de cyclooléfines ; et d'un métal ou d'un alliage métallique, par exemple choisi parmi Al, Au, ou l'acier inox.

Par surface active, on entend surface du substrat sur laquelle est formée la, au moins une, zone de capture et la, au moins une zone, de travail arrangée avec ladite zone de capture. Selon l'invention, le substrat peut comporter une ou plusieurs surfaces actives. Selon l'invention, chaque surface active peut comprendre plusieurs zones de captures arrangées respectivement avec une ou plusieurs zone(s) de travail.

La surface active peut être constituée de tout matériau sensiblement non mouillant vis-à-vis du liquide d'intérêt et approprié pour mettre en œuvre la présente invention. En effet, le fonctionnement du dispositif de la présente invention repose en partie sur le fait que la surface active ne retient pas ou très peu le liquide d'intérêt, ce qui permet un démouillage total, facile, sans rétention de liquide d'intérêt sur la surface, et ceci sans séchage. De préférence la surface active forme un angle de contact avec le liquide d'intérêt de au moins  $60^\circ$ . Ainsi, les gouttes de liquide d'intérêt sont capturées sélectivement et exclusivement par la, ou les, zone(s) de capture, et sont circonscrites à ces zones, ce qui évite tout problème de contamination entre les gouttes, et donc entre les zones de travail.

Le matériau de la surface active est donc choisi en fonction du liquide d'intérêt à partir duquel une matrice de gouttes doit être formée, mais aussi en fonction du substrat, et en fonction des zones de travail et de capture. Il peut être disposé sur le substrat par modification chimique ou par dépôt. Il peut s'agir également du substrat lui-même s'il est constitué d'un matériau à caractère sensiblement non mouillant vis-à-vis du liquide d'intérêt. Dans ce dernier cas, aucune modification chimique supplémentaire n'est requise.

Par exemple, lorsque le liquide d'intérêt est aqueux, le matériau formant la surface active est avantageusement hydrophobe. Par exemple, dans les exemples de matériaux précités constituant le substrat,

la surface du substrat peut être rendue non mouillante, ici hydrophobe, par modification chimique, par exemple par silanisation avec un silane porteur de fonctions hydrophobes, par exemple 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodécyltrichlorosilane. Il peut s'agir par exemple aussi d'un dépôt de téflon liquide sur plateau tournant ; d'une silanisation en phase gazeuse de silane hydrophobe ; de l'utilisation de silane hydrocarboné, par exemple du type octadécyltrichlorosilane. Les matériaux et procédés utilisables pour la mise en œuvre de telles modifications chimiques sont connus de l'homme du métier. Un exemple de réalisation est donné ci-dessous.

Le traitement permettant de rendre la surface du substrat non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt peut être réalisé, avant ou après la formation de la, ou des, zone(s) de capture et/ou de la, ou des, zone(s) de travail correspondantes. Ces dernières seront protégées au cas où il est réalisé après celles-ci.

La forme et la taille de cette surface active, et donc aussi du substrat sur lequel elle est formée, n'ont pas d'importance pour le fonctionnement du dispositif de l'invention. Elles peuvent être déterminées par exemple en fonction du nombre de zones de capture couplées à des zones de travail formées sur celle-ci, et éventuellement de leur disposition sur cette surface, ainsi qu'en fonction de la taille désirée du dispositif tel qu'il sera utilisé et des spécifications de coût. Toutefois, afin d'éviter des rétentions non prévues du liquide d'intérêt sur la surface, de préférence, elle est choisie plane. Par



exemple, la surface active peut avoir une forme et une  
taille comparables aux plaquettes utilisées pour la  
fabrication de laboratoires sur puce et des  
microsystèmes d'analyse et de détection connus de  
5 l'homme du métier.

Selon l'invention, la surface active, ou le  
substrat sur laquelle cette surface est formée, est  
modifié par structuration ou traitement de surface afin  
de créer les zones de capture et de travail du  
10 dispositif de l'invention.

Les zones de capture sont des zones très  
localisées, mouillantes vis-à-vis du liquide d'intérêt,  
c'est-à-dire ayant une forte affinité pour ce liquide  
d'intérêt. Le terme « localisé » est défini ci-dessus.  
15 Par exemple, dans une utilisation basique du  
dispositif, en faisant ruisseler un peu de liquide  
d'intérêt sur la surface active, la zone de capture  
capture, ou retient, une goutte de liquide d'intérêt,  
alors que la surface active, sensiblement non  
20 mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt, ne retient  
pas ou très peu de liquide d'intérêt. En cessant le  
ruissellement, seule la goutte de liquide d'intérêt  
retenue localement par la zone de capture reste sur la  
surface active.

25 Selon l'invention, la, au moins une, zone de  
capture peut être une zone de capture chimique,  
électrique ou physique d'une goutte de liquide  
d'intérêt.

Par exemple, suivant un premier mode de  
30 réalisation du dispositif de l'invention, la zone de  
capture est constituée d'un matériau support qui est

disposé de manière déterminée sur ladite surface active ou sur le substrat et qui, si nécessaire, peut être modifié chimiquement pour le rendre mouillant vis-à-vis du liquide d'intérêt, par exemple par greffage sur  
5 celui-ci d'une fonction chimique mouillante vis-à-vis dudit liquide d'intérêt.

Par exemple, ce matériau support peut être constitué d'un matériau choisi dans le groupe constitué du silicium, de l'oxyde de silicium ( $\text{SiO}_2$ ) ; du verre ;  
10 du nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) ; des polymères, par exemple des polymères organiques tels que ceux choisis dans le groupe comprenant les polycarbonates, les polydiméthylsiloxanes, les polyméthylmétacrylates, les polychlorobiphényles et les copolymères de  
15 cyclooléfinés ; et d'un métal ou d'un métal ou d'un alliage métallique, par exemple choisi parmi Al, Au, ou l'acier inox.

Par exemple, la fonction chimique mouillante vis-à-vis d'un liquide d'intérêt aqueux peut être  
20 choisie dans le groupe constitué d'une fonction alcool, alcoolate, acide carboxylique, carboxylate, acide sulfonique, sulfonate, oxyamine, hydrazine, amine et ammonium.

A titre d'exemple, les deux procédés suivants  
25 (1) et (2) peuvent être utilisés pour fabriquer ce type de zone de capture :

(1) Sur un substrat choisi parmi les matériaux précités (par exemple isolant) on peut réaliser les étapes suivantes :

30 i) Dépôt par évaporation ou pulvérisation d'une ou de plusieurs couches de métaux (support)

choisis parmi Ti, Pt, Au, Pd, Ni, Al, etc. avec comme dernière couche obligatoire Au. Cependant, si la zone de travail est une microcellule électrochimique (voir ci-dessous), les électrodes de cette microcellule  
5 seront préférentiellement pas en or.

ii) Définition de motifs dans la couche métallique par photolithographie puis gravure des métaux, par exemple dans un bain de gravure chimique, ou en phase gazeuse avec un plasma, pour former une  
10 zone de capture.

iii) Dépôt d'un matériau isolant ( $\text{SiO}_2$  ou  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) sur tout le substrat puis définition de motifs par photolithographie et gravure localisée dans un bain de gravure chimique ou en phase gazeuse avec un plasma  
15 pour enlever le matériau isolant sur les zones devant être en contact avec le liquide d'intérêt.

iv) Réalisation de la surface active non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt sur l'ensemble du substrat, par exemple pour le rendre  
20 hydrophobe, par silanisation du  $\text{SiO}_2$  ou du  $\text{Si}_3\text{N}_4$  avec un silane porteur de fonctions hydrophobes, par exemple avec le 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodécyl-trichlorosilane ; puis la zone de capture obtenue est nettoyée, par exemple par voie chimique, par exemple avec une  
25 solution de NaOH ; par voie électrochimique, par exemple par application d'un potentiel de 1,2V pendant 10s ; ou par plasma oxygène. La zone de travail si elle est déjà formée sur la surface est ensuite nettoyée si nécessaire par les mêmes moyens que ceux utilisés pour  
30 la zone de capture.

v) Réalisation de la barrière hydrophile sur la zone de capture, ici en or, par physisorption de thiols, par exemple de la manière décrite dans le document [10], porteurs de fonctions mouillantes pour le  
5 liquide d'intérêt auquel est destiné ce dispositif.

(2) Lorsque le substrat est choisi parmi  $\text{SiO}_2$  ou  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , on peut aussi, par exemple, réaliser les étapes suivantes :

10 x) Réalisation de la surface active non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt sur l'ensemble du substrat, par exemple pour le rendre hydrophobe, par silanisation du  $\text{SiO}_2$  ou du  $\text{Si}_3\text{N}_4$  avec un silane porteur de fonctions hydrophobes, par exemple  
15 avec le 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodécyl-trichlorosilane,

y) Définition de motifs par photolithographie puis destruction du silane hydrophobe par voie chimique, par exemple au moyen d'une solution de NaOH, ou au moyen d'un plasma pour former la zone où  
20 sera formée la zone de capture (ou bande mouillante),

z) Réalisation de la zone de capture par exemple par silanisation avec un silane porteur de fonctions mouillantes pour le liquide d'intérêt auquel est destiné ce dispositif, par exemple avec des silanes  
25 porteurs de fonctions mouillantes pour les solutions aqueuses décrites précédemment par exemple le silane  $\epsilon$ -aminopropyl triéthoxysilane. Le document [9] expose des procédés utilisables.

30 Par exemple, suivant un deuxième mode de réalisation du dispositif de l'invention, en

particulier lorsque le dispositif de l'invention est destiné à être utilisés avec des liquides d'intérêt aqueux et lorsque la surface active ou le substrat est à base de silicium, la zone de capture peut être constituée de silicium noir hydrophile, qui peut être formé très facilement sur une telle surface par gravure. La zone gravée devient alors particulièrement mouillante vis-à-vis d'un liquide d'intérêt aqueux. La zone gravée ne nécessite pas d'autre modification chimique pour être mouillante. Ce mode de réalisation est donc très économique. Le document [11] expose un exemple de protocole de laboratoire pouvant être utilisé pour fabriquer ce type de zones de capture.

Par exemple, suivant un troisième mode de réalisation du dispositif de la présente invention, la zone de capture peut être une électrode de capture par mouillage. Suivant ce mode de réalisation de la présente invention, la zone de capture, ici une électrode, peut être constituée par exemple d'un matériau choisi dans le groupe constitué des métaux nobles, par exemple Au, Pt, Pd, Ti, Ni, Al, etc., ou un alliage de métaux nobles ; de carbone ; de graphite ; et d'oxyde d'indium et d'étain (ITO) ; ledit matériau étant rendu mouillant par électrodéposition sur celui-ci d'un polymère conducteur d'électricité sur lequel est fixée une fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt.

Selon l'invention, le polymère conducteur d'électricité peut être un des polymères utilisés dans la fabrication des laboratoires sur puce. Il peut être

choisi par exemple dans le groupe constitué du polypyrrole, de la polyaniline, du polyazulène, d'un polythiophène, du polyindole, du polyfurane, et du polyfluorène. La fonction chimique mouillante peut être  
5 par exemple une des fonctions chimiques mouillantes citées ci-dessus. Sa fixation sur le monomère avant polymérisation ou sur le polymère une fois qu'il est formé peut être effectuée par les techniques classiques de chimie.

10 Un exemple de procédé de fabrication de ce type de zone de capture peut être résumé ainsi :

(3) Sur un substrat (isolant) choisi parmi les matériaux tels que  $\text{SiO}_2$  ou  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , verre, polymère, on peut réaliser les étapes suivantes :

15 ε) Dépôt par évaporation ou pulvérisation d'une ou de plusieurs couches de métaux (support) choisis parmi les métaux précités, avec comme dernière couche un métal choisi parmi Pt et Au ou tout autre métal noble ou un alliage de ces métaux. Cela peut  
20 également être un dépôt de carbone, graphite, ITO, etc.

β) Définition de motifs dans la couche métallique par gravure des métaux, par exemple dans un bain de gravure chimique, ou en phase gazeuse avec un plasma, pour former une ou plusieurs électrode(s) et  
25 une ou plusieurs bande(s) métallique(s) d'arrivée de courant.

ε) Protection de la ou des bande(s) métallique(s) d'arrivée du courant par dépôt d'un matériau isolant ( $\text{SiO}_2$  ou  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) puis définition de  
30 motifs par photolithographie puis gravure localisée dans un bain de gravure chimique ou en phase gazeuse

avec un plasma pour enlever le matériau isolant sur les zones devant être fonctionnalisées ou en contact avec le liquide d'intérêt.

5           ε) Réalisation de la surface active non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt sur l'ensemble du substrat, par exemple pour le rendre hydrophobe, par silanisation du  $\text{SiO}_2$  ou du  $\text{Si}_3\text{N}_4$  avec un silane porteur de fonctions hydrophobes, par exemple avec le 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodécyl-trichlorosilane.  
10 Les électrodes sont ensuite nettoyées, par exemple par voie chimique, par exemple avec une solution de NaOH ; par voie électrochimique, par exemple par application d'un potentiel de 1,2V pendant 10s ; ou par plasma. La zone de travail si elle est déjà formée sur la surface  
15 est ensuite nettoyée si nécessaire par exemple par les mêmes moyens utilisés pour l'électrode.

          ε) Réalisation de la barrière hydrophile sur l'électrode la plus externe dans le cas où on a plusieurs électrodes par dispositif selon l'invention  
20 (cas où la zone de travail est une microcellule électrochimique) par électropolymérisation en conditions potentiostatiques, galvanostatiques ou en balayages récurrents d'un polymère conducteur d'électricité porteur de fonctions mouillantes pour le  
25 liquide d'intérêt auquel est destiné le dispositif. Des exemples de polymères et fonctions mouillantes sont donnés ci-dessus.

30 Par exemple, suivant un quatrième mode de réalisation du dispositif de la présente invention, la zone de capture peut être une électrode de capture par

électro-activation de fonctions chimiques. Ce mode de réalisation est sensiblement identique au troisième mode de réalisation précité, mis à part que les fonctions chimiques mouillantes utilisées sont choisies de telle manière qu'elles puissent être électro-activées ou électro-désactivées. Ainsi, par exemple dans le cas de fonctions chimiques électro-activables, il est nécessaire d'appliquer un courant électrique à l'électrode constituant la zone de capture pour que les fonctions chimiques mouillantes de cette électrode soient activées et capturent une goutte du liquide d'intérêt. En interrompant l'application du courant électrique, les fonctions mouillantes sont désactivées, et la goutte de liquide d'intérêt est relâchée. Ce mode de réalisation permet avantageusement de placer sur les zones de travail, après la première goutte de liquide d'intérêt, une goutte d'un deuxième liquide d'intérêt (et ainsi de suite), par exemple de rinçage ou contenant des réactifs chimiques permettant de réaliser une analyse ou une modification chimique d'analytes ou d'éléments présents à l'origine dans le premier liquide d'intérêt puis liés à des sondes fixées sur la zone de travail. La zone de travail peut alors constituer un véritable microréacteur sur lequel des étapes successives d'un protocole utilisant différentes solutions peut être mises en œuvre.

Suivant un cinquième mode de réalisation, la zone de capture peut être une zone de capture par électro-mouillage. Dans ce mode de réalisation, l'électro-mouillage permettant de capturer une goutte de liquide d'intérêt consiste à appliquer un potentiel



entre deux électrodes, dont une est couverte d'un matériau isolant et non mouillant. Une goutte de liquide placée entre ces deux électrodes va venir mouiller la surface non mouillante. Dans les systèmes actuels, avec deux électrodes en vis-à-vis, il est possible de retenir un liquide localement grâce à ce système. Le document référencé [7] expose des protocoles utilisables pour mettre en œuvre ce cinquième mode de réalisation de la présente invention.

10

Par exemple, suivant un sixième mode de réalisation du dispositif de la présente invention, la zone de capture peut être une gravure de, ou une saillie sur, la surface active permettant de capturer la goutte par des forces capillaires. Ces gravures ou saillies peuvent être réalisées par exemple par gravure directe du substrat ; par dépôt d'un matériau à la surface d'un substrat plan, par exemple par couchage, évaporation, pulvérisation, ou dépôt électrochimique, puis gravure en conjonction avec un procédé classique de photolithographie, par exemple par couchage de résine, insolation et définition de motifs, ou gravure ; par définition directe de motifs par photolithographie dans des polymères photosensibles, par exemple dans le cas de résines photosensibles ; moulage ou emboutissage de matériaux plastiques. L'essentiel est que ces gravures ou saillies formant des zones permettent de capturer, de manière localisée à cette zone, par capillarité, une goutte du liquide d'intérêt et que cette goutte recouvre au moins partiellement la zone de travail.

30

Quel que soit le mode de réalisation choisi, lorsque le liquide d'intérêt est aqueux, la zone de capture est de toute préférence une zone hydrophile et la surface active sensiblement non mouillante est de toute préférence hydrophobe.

Quel que soit le mode de réalisation choisi, avantageusement, la zone de capture et la, ou les, zone(s) de travail correspondante peuvent être placées dans un creux (ou cuvette) ou sur une saillie (ou plot) par rapport à la surface active. Ainsi, la zone de capture et la zone de travail correspondante sont en relief par rapport à la surface active, soit sur des plots, soit dans des cuvettes. Cela peut permettre de mieux circonscrire la goutte capturée par chaque zone de capture, et ainsi d'améliorer encore les propriétés du dispositif de l'invention en ce qui concerne la non contamination entre les zones de travail. Ce type de creux ou saillie existe par exemple dans les laboratoires sur puces actuelles. Cependant, dans la présente invention, ces creux et saillies seront suffisamment éloignés les uns des autres, particulièrement lorsqu'il s'agit de saillies, et de diamètre suffisant, particulièrement lorsqu'il s'agit de creux, de manière à ce que le liquide d'intérêt ne soit pas capturé par ceux-ci par capillarité entre les saillies ou dans les creux, mais bien par les zones de capture situées sur ces saillies ou dans ces creux. Ils peuvent être obtenus par emboutissage, moulage, gravure, ou toute autre technique connue de l'homme du métier et adaptée au matériau constituant le substrat

sur lequel la surface active de la présente invention est formée.

Selon l'invention, la zone de capture peut avoir n'importe quelle forme. Cette zone peut être choisie, à titre d'exemple, parmi une forme annulaire, en étoile, en rectangle, en carré, en triangle, en ellipse, ou en polygone ayant de 4 à 20 côtés, ou toute autre forme convenant à la mise en œuvre de la présente invention. De préférence, la forme est annulaire, ouverte ou fermée. En général, elle est sous forme de bande. Généralement, cette bande a une largeur et une épaisseur qui sont fonction de la taille du dispositif dans son ensemble (zone de capture + zone de travail). En effet, cette largeur et cette épaisseur doivent permettre la capture d'une goutte de liquide d'intérêt. Des exemples de dimensions sont donnés ci-dessous. Quoi qu'il en soit, selon l'invention, la zone de capture est arrangée avec la zone de travail de telle façon que si une goutte de liquide d'intérêt est capturée par celle-ci, cette goutte recouvre au moins partiellement la zone de travail. De préférence, selon l'invention, la zone de capture entoure la zone de travail, ceci de manière continue ou discontinue.

Par ailleurs, selon un mode particulier de réalisation du dispositif de la présente invention, une zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt peut entourer plusieurs zones de travail, par exemple de 2 à 4 ou plus, pourvu que lorsqu'une goutte de liquide d'intérêt est capturée par la zone de capture, cette goutte recouvre, au moins partiellement, toutes les

zones de travail qui sont entourées par cette zone de capture.

Par zone de travail, on entend une zone au niveau de laquelle des opérations physiques et/ou chimiques et/ou optiques peuvent être menées dans la goutte capturée par la zone de capture avec laquelle elle est arrangée. Ainsi, selon l'invention, la, au moins une, zone de travail peut être une zone d'interaction choisie parmi une zone d'interaction électrique, chimique, mécanique, optique avec ladite goutte de liquide d'intérêt capturée, ou une zone au niveau de laquelle plusieurs de ces interactions sont utilisées simultanément ou successivement.

Ainsi, suivant une première forme de réalisation de l'invention, la zone de travail peut être une zone d'interaction électrique, par exemple une microcellule électrochimique.

Une microcellule électrochimique est un dispositif possédant au moins deux électrodes préférentiellement coplanaires, formant une électrode de travail et une contre-électrode. Elle peut également posséder une électrode de référence. Ces éléments sont connus de l'homme du métier. Les procédés de fabrication connus de l'homme du métier sont utilisables pour fabriquer cette zone de travail, par exemple le procédé décrit dans le document référencé [8].

Grâce à cette forme de réalisation, le dispositif de la présente invention peut constituer un véritable microréacteur électrochimique qui utilise la

goutte de liquide d'intérêt capturée par la zone de capture comme milieu réactionnel, et plus précisément comme milieu électrochimique. Le réacteur électrochimique suivant cette première forme de réalisation de la présente invention peut être utilisé pour réaliser toute réaction et/ou analyse électrochimique connue de l'homme du métier.

Ce réacteur peut servir par exemple à effectuer des réactions d'électropolymérisation localisée d'un ou de plusieurs monomère(s) présent(s) dans la goutte (polymérisation ou copolymérisation) et/ou d'électro-greffage localisé d'une ou de plusieurs molécule(s) chimique(s) présente(s) dans la goutte du liquide d'intérêt sur une des électrodes de la microcellule. Dans cet exemple, le liquide d'intérêt est alors un liquide contenant les réactifs nécessaires à l'électropolymérisation ou à l'électrogreffage désiré. La polymérisation et le greffage peuvent être avantageusement localisés au niveau de la goutte du liquide d'intérêt capturée par la zone de capture. De telles réactions d'électropolymérisation ou greffage localisés peuvent être utilisées par exemple pour la fabrication de puces biologiques ou systèmes d'analyse.

Ce microréacteur électrochimique peut servir par exemple aussi à effectuer des analyses électrochimiques, qualitatives et/ou quantitatives, d'analytes présents dans la goutte d'un liquide d'intérêt capturée par la zone de capture. Il peut servir par exemple aussi à effectuer des analyses électrochimiques, qualitatives et/ou quantitatives, d'une reconnaissance moléculaire sonde/cible, la sonde

étant fixée sur la zone de travail, et la cible se trouvant dans la goutte du liquide d'intérêt capturée.

Dans un exemple particulier, la microcellule électrochimique du dispositif de l'invention peut être  
5 utilisée d'abord pour « fabriquer » la zone de travail, et ensuite pour utiliser cette zone de travail pour l'analyse d'une goutte d'un liquide d'intérêt. Par exemple, si la zone de travail doit comprendre un polymère organique fonctionnalisé par une sonde, par  
10 exemple une sonde biologique, elle peut être fabriquée par électropolymérisation d'un polymère conducteur fonctionnalisé par une sonde, par exemple suivant le procédé décrit dans le document référencé [5]. La particularité liée à l'utilisation du dispositif de  
15 l'invention est qu'on utilise la zone de capture pour capturer de manière localisée sur la zone de travail une première goutte d'un premier liquide d'intérêt contenant les réactifs nécessaires à l'électropolymérisation (monomère organique). La  
20 fonctionnalisation par la sonde, peut être réalisée simultanément à l'électropolymérisation, le premier liquide d'intérêt contient alors aussi la sonde (par exemple monomère fonctionnalisé par la sonde). La fonctionnalisation peut aussi être réalisée  
25 postérieurement à l'électropolymérisation au moyen d'une deuxième goutte d'un deuxième liquide d'intérêt (contenant la sonde) capturée par la même zone de capture et, de ce fait localisée sur la même zone de travail. En outre, la zone de travail ainsi fabriquée  
30 peut ensuite être séchée, et elle peut servir, toujours grâce à la zone de capture avec laquelle elle est

arrangée, à capturer une goutte d'un troisième liquide d'intérêt à analyser, contenant une cible qui interagit avec la sonde (par exemple oligonucléotides complémentaires). Un quatrième liquide d'intérêt peut encore être utilisé pour analyser (détection et/ou dosage) l'interaction sonde/cible sur ladite zone de travail, et ainsi de suite.

Dans un exemple particulier, où la microcellule électrochimique d'un dispositif de la présente invention est utilisée pour détecter une cible présente dans un échantillon liquide, par exemple en mettant en jeu une interaction de la cible à détecter avec une sonde spécifique fixée sur la zone de travail, il est possible de détecter électrochimiquement ladite interaction par exemple avec amplification du signal par accumulation enzymatique dans une goutte d'un liquide d'intérêt, contenant un substrat enzymatique, capturée par la zone de capture arrangée avec cette zone de travail. Le document [4] expose un protocole opératoire utilisable pour ce type de détection, avec le dispositif de la présente invention.

La détection d'une interaction sonde/cible sur la zone de travail peut faire intervenir un des autres moyens connus de l'homme du métier que la cellule électrochimique, par exemple un procédé optique. La microcellule électrochimique peut donc servir dans ce cas uniquement à « fabriquer » la zone de travail, la détection d'une interaction sonde/cible étant ensuite effectuée par un autre moyen.

Dans ces exemples, différentes gouttes constituées de différents liquides d'intérêt sont donc

capturées successivement par une même zone de capture sur le dispositif de la présente invention à différentes fins, par exemple pour réaliser des étapes successives d'un protocole de fabrication de la zone de travail, par exemple aussi pour réaliser des étapes successives de détection et/ou de dosage d'un analyte dans un liquide d'intérêt. L'avantage lié à la présente invention est que quel que soit l'objectif des captures successives de gouttes de liquides d'intérêt, les gouttes capturées successivement sont toutes localisées sur les zones de travail, grâce à leur zone de capture respective.

Quelle que soit la mise en œuvre de cette forme de réalisation caractérisée par la présence d'une microcellule électrochimique, la sonde qui fonctionnalise la zone de travail peut être choisie par exemple dans le groupe constitué par une enzyme, un substrat d'enzyme, un oligonucléotide, un oligonucléoside, une protéine, un récepteur membranaire d'une cellule eucaryote ou procaryote, un anticorps, un antigène, une hormone, un métabolite d'un organisme vivant, une toxine d'un organisme vivant, polynucléotide, polynucléoside, ADN complémentaire. Elle est bien entendu choisie en fonction de la cible avec laquelle elle devra interagir.

Avantageusement, suivant cette première forme de réalisation du dispositif de l'invention, l'électrode la plus externe de la microcellule, peut être utilisée pour former la zone de capture ou bande mouillante du dispositif de l'invention. Dans ce cas, comme exposé ci-dessus, un polymère conducteur porteur



de la fonction mouillante destiné à former la zone de capture est déposé sur cette électrode. Pour ce dépôt, le polymère peut être électro-déposé sur l'électrode grâce à la cellule électrochimique formant la zone de travail. Des procédés utilisables pour déposer un polymère conducteur sur une électrode et y lier une fonction chimique mouillante sont décrits ci-dessus dans le troisième mode de réalisation de la zone de capture selon l'invention. La forme de cette électrode n'a pas d'importance dès lors qu'elle entoure la zone de travail conformément à la présente invention.

Selon l'invention, l'électrode formant la zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt peut fonctionner de manière totalement indépendante de la zone de travail. Elle peut aussi fonctionner de manière dépendante en étant utilisée par la suite dans la fonction de la microcellule électrochimique, par exemple pour effectuer des mesures électrochimiques et/ou des réactions électrochimiques dans la goutte capturée. La zone de capture du dispositif de la présente invention peut donc être active ou non suivant le choix de mise en oeuvre du dispositif de l'invention.

Avantageusement aussi, l'électrode de capture d'une goutte de liquide d'intérêt peut en outre être fonctionnalisée par une sonde destinée à interagir avec une cible. Par exemple, lorsque la zone de capture est constituée suivant le troisième mode de réalisation de la présente invention, le polymère conducteur fonctionnalisé par une fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt peut également être, en

5 outre, fonctionnalisé par ladite sonde destinée à  
interagir avec une cible. La sonde est définie ci-  
dessus pour la zone de travail. Les procédés connus de  
l'homme du métier pour fonctionnaliser un polymère  
conducteur par une sonde pour la fabrication de puces  
biologiques sont utilisables pour la fabrication de  
cette zone de capture particulière de la présente  
invention. Il peut s'agir à titre d'exemple des  
procédés exposés dans les documents précités.

10

Suivant une deuxième forme de réalisation de  
l'invention, la zone de travail peut être une zone  
d'interaction chimique avec la goutte de liquide  
d'intérêt capturée, sans microcellule électrochimique.  
15 La zone de travail peut par exemple comporter des  
fonctions ou des réactifs chimiques ou biologiques  
prêts à réagir avec une cible de ces fonctions ou de  
ces réactifs présente dans un liquide d'intérêt. De  
même que pour la première forme de réalisation, le  
20 dispositif de l'invention peut servir dans un premier  
temps à placer ces fonctions ou ces réactifs sur la  
zone de travail, et dans un deuxième temps, après  
séchage, à capturer une goutte de liquide d'intérêt  
contenant la cible de ces fonctions ou de ces réactifs  
25 pour son analyse. De même que pour la première forme de  
réalisation, plusieurs liquides d'intérêt pourront se  
succéder sur le dispositif de l'invention, par exemple  
pour réaliser des étapes successives d'un protocole de  
fabrication de la zone de travail, par exemple aussi  
30 pour réaliser des étapes successives de détection et/ou

de dosage d'un analyte dans un liquide d'intérêt. Les avantages sont les mêmes que ceux précités.

Cette zone de travail peut être choisie parmi celles connues de l'homme du métier dans le domaine des  
5 puces biologiques (puces commercialisées par AGILENT, CIPHERGEN, EUROGENTEC). La différence du dispositif de la présente invention avec ces puces de l'art antérieur réside surtout en la présence de la zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt arrangée avec ladite  
10 zone de travail. Cette zone de travail peut être fabriquée par exemple par silanisation puis immobilisation de sondes biologiques comme cela est décrit par exemple dans le document référencé [12].

Cette zone de travail peut être par exemple une  
15 zone comportant un polymère fonctionnalisé par une sonde biologique telles que celles précitées, dans le but de fixer une cible correspondante susceptible d'être présente dans un liquide d'intérêt pour la détecter, par exemple optiquement. Par exemple, sur un  
20 substrat tels que ceux précités, cette zone de travail peut être obtenue selon des méthodes décrites dans le document référencé [13]. Les puces ainsi fonctionnalisées peuvent ensuite, grâce à la zone de capture du dispositif de l'invention, servir à capturer  
25 une goutte d'un échantillon à analyser puis éventuellement d'un autre liquide d'intérêt pour mettre en évidence une interaction sonde/cible.

Suivant une troisième forme de réalisation de  
30 l'invention, la zone de travail peut posséder des dispositifs actifs ou de mesure, tels que des capteurs

ou des actionneurs. Cette forme de réalisation peut s'ajouter aux formes de réalisation et variante précitées, ou être exclusive suivant l'objectif visé dans la mise en œuvre de la présente invention. Les  
5 dispositifs actifs ou de mesure sont avantageusement situés au centre des zones de capture.

Lorsque la zone de travail comprend un capteur, il peut être choisi par exemple dans le groupe constitué des capteurs électriques, magnétiques,  
10 électrostatiques, mécaniques (par exemple capteur de pression), thermiques (par exemple capteurs de température), optiques (par exemple dispositif de détection optique) et chimiques.

Lorsque la zone de travail comprend un  
15 actionneur, il peut être choisi par exemple dans le groupe constitué des actionneurs optiques (source lumineuse), électriques, magnétiques, électrostatiques, mécaniques (déplacement mécanique), thermiques (résistance chauffante) et chimiques.

20 De tels capteurs et actionneurs, utilisables pour la mise en œuvre de la présente invention, ainsi que leur procédé de fabrication sont connus de l'homme du métier, notamment dans le domaine des microsystemes. Là encore, la différence du dispositif de la présente  
25 invention avec ces puces de l'art antérieur réside notamment en la présence de la zone de capture du liquide d'intérêt arrangée avec ladite zone de travail.

Quelle que soit la forme de réalisation, selon  
30 l'invention, la, au moins une, zone de travail peut être une zone sensiblement non mouillante ou mouillante

vis-à-vis du liquide d'intérêt. Les inventeurs ont en effet noté au cours de leurs expérimentations que la mouillabilité de la zone de travail n'est pas déterminante pour le fonctionnement du dispositif de la présente invention. Ils ont en effet remarqué que, de manière tout à fait inattendue, le dispositif de la présente invention peut aussi fonctionner lorsque la zone de travail est non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt, pourvu que la goutte capturée recouvre au moins partiellement ladite zone de travail.

La présente invention se rapporte également à un procédé de fabrication du dispositif de la présente invention comprenant les étapes suivantes :

- fournir un substrat comportant une surface choisie pour devenir la surface active,
- structurer la surface choisie du substrat afin de former sur celle-ci une zone de travail,
- appliquer un traitement sur la surface choisie afin de la rendre sensiblement non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt auquel le dispositif est destiné, et
- structurer la surface choisie afin de former une zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt,

les étapes de structuration de la surface pour former une zone de travail et de structuration de la surface pour former la zone de capture étant réalisées afin que la zone de travail soit arrangée avec la zone de capture de telle manière que lorsque la zone de capture capture une goutte de liquide d'intérêt, la

zone de travail étant recouverte au moins partiellement par ladite goutte.

Le substrat, la structuration pour former la zone de travail, le traitement de la surface du substrat destiné à la rendre sensiblement non mouillante, et la structuration de la surface destinée à former la zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt sont définis ci-dessus.

Ainsi, par exemple, l'étape consistant à structurer la surface pour former la zone de capture peut consister à former une électrode destinée à former la zone de capture, à électro-déposer sur cette électrode un polymère conducteur, porteur d'une ou plusieurs fonction(s) chimique(s) mouillante(s).

Ainsi, par exemple, l'étape consistant à structurer la surface pour former la zone de travail peut consister : à fabriquer sur cette surface un capteur ; un actionneur ; une microcellule électrochimique ; une couche de polymère fonctionnalisée, ou qui peut être fonctionnalisée, avec une sonde destinée à reconnaître une cible susceptible d'être présente dans le liquide d'intérêt.

Ces étapes et les matériaux utilisables sont décrits ci-dessus.

25

La présente invention se rapporte également à une plaquette de travail comprenant plusieurs dispositifs de travail selon l'invention identiques ou différents. En effet, le dispositif de la présente invention, tel qu'il est présenté ci-dessus, peut être disposé en série sur une plaque, par exemple pour

former une matrice, les zones de travail pouvant être identiques sur toute la plaquette, ou différentes, par exemple pour pouvoir effectuer des analyses multiparamétriques et des réactions chimiques et biologiques différentes d'une zone à l'autre, 5 simultanément ou successivement. La plaque peut être constituée du substrat comportant la ou les surface(s) active(s) définie(s) dans la présente. Le terme « matrice » est défini ci-dessus. Le nombre de 10 dispositifs sur une plaquette de travail selon l'invention dépend notamment du nombre d'analyses à effectuer sur cette plaquette. Par exemple, si la plaquette comporte 1000 dispositifs selon l'invention, elle va permettre de capturer 1000 gouttes de liquide 15 d'intérêt sur 1000 zones de travail, ou plus lorsqu'une zone de capture entoure plusieurs zones de travail, et donc de réaliser simultanément au moins 1000 analyses du liquide d'intérêt. Elle trouve donc par exemple une utilité pour mettre en œuvre une analyse 20 multiparamétrique simultanée du liquide d'intérêt. Elle permet notamment de fabriquer des laboratoires sur puce, par exemple des puces biologiques et microsystemes d'analyse.

La présente invention se rapporte donc 25 également à une puce biologique comprenant un dispositif ou une plaquette selon l'invention. Cette puce peut être par exemple une puce à acide nucléique, une puce à anticorps, une puce à antigènes, une puce à protéine, une puce à cellules, ou une puce comprenant 30 plusieurs de ces fonctions, par exemple une puce à

acide nucléique et à protéine, une puce à anticorps et à acide nucléique, etc.

Le dispositif de la présente invention pouvant être miniaturisé à l'échelle millimétrique ou micrométrique, à titre d'exemple, de 5  $\mu$ m à 5 mm. La présente invention se rapporte également à un système comprenant un ou plusieurs dispositif(s) de travail selon l'invention, identiques ou différents, ou une plaquette selon l'invention. Le système peut être par exemple un microsystème d'analyse, par exemple un microsystème d'analyse totale (MicroSystème d'Analyse Totale ou  $\mu$ TAS).

La fabrication de la plaquette, et du système conformes à la présente invention peut être réalisée de la même manière que celle exposée ci-dessus pour la fabrication du dispositif de l'invention. Pour les parties de ces puces et systèmes qui sont distinctes de la présente invention, les procédés connus de l'homme du métier sont utilisables. En effet, la différence du dispositif, plaquette, laboratoire sur puce, et système de la présente invention avec leurs homologues de l'art antérieur réside essentiellement en la présence de la zone de capture de liquide d'intérêt arrangée avec chaque zone de travail. Aucune contrainte n'est imposée sur le choix du (ou des) matériau(x), ce choix étant guidé essentiellement par l'application envisagée et par les spécifications de coût : matériau classique de microélectronique utilisés pour les microsystèmes (silicium, verre, oxyde de silicium, nitrure de silicium, etc.), matériau composite de type



polymère technique disponible pour les circuits imprimés, etc.

Dans le domaines des microsystemes, où la dimension caractéristique du dispositif de l'invention est proche de 100  $\mu\text{m}$ , l'orientation du dispositif n'a pas d'importance car les forces de gravité deviennent négligeables devant les forces de capture de la goutte par les zones de capture issues d'interactions à courte distance. En revanche, pour des applications visant des échelles de taille plus élevées pour la mise en œuvre de la présente invention, le dispositif de l'invention est bien entendu préférentiellement placé horizontalement avec une structuration de la surface active pour former les zones de capture et de travail vers le haut.

Dans la mise en œuvre de la présente invention, les dimensions d'une zone de capture peuvent varier largement en fonction de l'utilisation à laquelle est destinée et du mode de réalisation (une ou plusieurs zones de travail par zone de capture, un ou plusieurs dispositif(s) de l'invention sur une surface active). Par exemple pour un microsysteme, la zone de capture peut avoir un diamètre allant de 5  $\mu\text{m}$  à 5 mm. Lorsque la zone de capture est sous forme de bande, cette bande peut avoir une largeur de 1  $\mu\text{m}$  à 500  $\mu\text{m}$  et une épaisseur par rapport à la surface active de 0 à 500  $\mu\text{m}$ . La zone de travail, dont la dimension dépend notamment de la zone de capture (la goutte capturée devant recouvrir au moins partiellement cette zone de travail) peut avoir par exemple, avec les dimensions précitées de la zone de capture, un diamètre tel qu'il

touche la zone de capture qui l'entoure ou non. Par exemple, la zone de travail peut avoir un diamètre de 5  $\mu$ m à 5 mm.

Pour que la, ou les, zone(s) de capture capturent une goutte de liquide d'intérêt, il est nécessaire de mettre en contact le liquide d'intérêt avec ladite ou lesdites zones de capture. Pour cela, il est possible par exemple de faire ruisseler le liquide d'intérêt sur la ou les zone(s) de capture ou d'immerger cette (ces) dernière(s) dans le liquide d'intérêt. Selon l'invention, les moyens permettant de laisser une goutte de liquide d'intérêt sur ladite zone de capture localisée peuvent être une seringue, une pipette, une micropipette, un récipient contenant le liquide d'intérêt et dans lequel le dispositif ou la plaquette de l'invention peut être plongé, etc. Il peut s'agir également d'un dispensateur d'une goutte de liquide d'intérêt par zone de capture. En effet, dans ce cas, le dispositif de l'invention permet de garantir qu'il n'y a pas de contamination entre les zones de travail. Les dispensateurs utilisables sont ceux habituellement utilisés par exemple dans le domaine des laboratoires sur puce et des microsystèmes.

La présente invention se rapporte également à une boîte de travail telle qu'elle est définie ci-dessus.

Dans cette boîte de travail, le conteneur peut être ouvert ou fermé. Ce conteneur peut être utilisé spécialement pour immerger le dispositif de l'invention ou la plaquette de l'invention dans le liquide d'intérêt, ou un conteneur qui permet en plus de

touche la zone de capture qui l'entoure ou non. Par exemple, la zone de travail peut avoir un diamètre de 5  $\mu$ m à 5 mm.

Pour que la, ou les, zone(s) de capture capturent une goutte de liquide d'intérêt, il est nécessaire de mettre en contact le liquide d'intérêt avec ladite ou lesdites zones de capture. Pour cela, il est possible par exemple de faire ruisseler le liquide d'intérêt sur la ou les zone(s) de capture ou d'immerger cette (ces) dernière(s) dans le liquide d'intérêt. Selon l'invention, les moyens permettant de laisser une goutte de liquide d'intérêt sur ladite zone de capture localisée peuvent être une seringue, une pipette, une micropipette, un récipient contenant le liquide d'intérêt et dans lequel le dispositif ou la plaquette de l'invention peut être plongé, etc. Il peut s'agir également d'un dispenseur d'une goutte de liquide d'intérêt par zone de capture. En effet, dans ce cas, le dispositif de l'invention permet de garantir qu'il n'y a pas de contamination entre les zones de travail. Les dispenseurs utilisables sont ceux habituellement utilisés par exemple dans le domaine des laboratoires sur puce et des microsystèmes.

La présente invention se rapporte également à une boîte de travail telle qu'elle est définie ci-dessus.

Dans cette boîte de travail, le conteneur peut être ouvert ou fermé. Ce conteneur peut être utilisé spécialement pour immerger le dispositif de l'invention ou la plaquette de l'invention dans le liquide d'intérêt, ou un conteneur qui permet en plus de

confiner le dispositif ou la plaquette de l'invention et/ou d'effectuer des analyses sur ou dans les gouttes capturées sur les zones de travail. Dans ces deux derniers cas, le conteneur est de préférence fermé, la  
 5 boîte de travail de la présente invention constitue alors un véritable laboratoire miniature. Elle pourra être utilisée dans des systèmes, tels que des microsystèmes d'analyse, ou former une puce biologique par exemple choisie dans le groupe constitué des puces  
 10 à acide nucléique, à anticorps, à antigènes, à protéine et à cellules.

Les dimensions du conteneur dépendent notamment des dimensions du dispositif de l'invention, ou de la plaquette de l'invention, qui doit être enfermé dans  
 15 celui-ci, mais aussi, le cas échéant, d'autres dispositifs d'analyse ou systèmes qui peuvent être joints dans ledit conteneur, par exemple d'autres laboratoires sur puce. Elles peuvent descendre en dessous du cm pour leur côté le plus grand.

20 Le conteneur peut être constitué par exemple d'un matériau choisi dans le groupe constitué par un polymère organique, une matière plastique élastomère, un verre, du métal, du silicium, une résine photosensible, ou par tout matériau connu de l'homme du  
 25 métier et permettant la mise en œuvre de la présente invention. Par exemple, il peut s'agir d'un des matériaux précités formant le substrat du dispositif de travail de la présente invention. Le matériau du conteneur est généralement choisi en fonction du type  
 30 de liquide d'intérêt à introduire dans celui-ci, de l'utilisation du conteneur (simplement immersion du

dispositif ou de la plaquette, ou immersion et analyse)  
et en fonction des spécifications de coût du  
fabriquant. Il peut s'agir d'un matériau identique à la  
surface active du dispositif de l'invention ou  
5 différent.

Le conteneur est de préférence suffisamment  
étanche pour éviter par exemple les fuites lors de  
l'immersion dans celui-ci du dispositif ou de la  
plaquette selon l'invention dans le liquide d'intérêt.  
10 En particulier, lorsqu'il est fermé, il est de  
préférence suffisamment étanche pour empêcher, par  
exemple, que des contaminations entrent dans le  
conteneur, par exemple bactérienne, chimiques, etc. ;  
et/ou pour empêcher l'évaporation de la, ou des,  
15 goutte(s) capturée(s) par la, ou les, zone(s) de  
capture après l'extraction du liquide d'intérêt du  
conteneur. L'homme du métier saura adapter l'étanchéité  
et utiliser les matériaux appropriés suivant  
l'utilisation qu'il fait de la présente invention.

20 Selon un mode de réalisation particulier de la  
boîte de travail de la présente invention, lorsque le  
substrat et le conteneur sont constitués d'un même  
matériau, le substrat peut constituer une des parois  
constituant le conteneur.

25 Les parois constituant le conteneur peuvent  
aussi être montées à partir de, et sur, la surface  
active du dispositif de l'invention, par exemple par  
collage ou compression.

Le conteneur peut comprendre un capot pour son  
30 montage, mais aussi, dans certaines applications, pour  
l'ouvrir ou le fermer, notamment afin de pouvoir

retirer de celui-ci le dispositif ou la plaquette de l'invention après l'avoir mis en contact avec le liquide d'intérêt, ou après les analyses ou réactions dans les gouttes. En effet, un seul conteneur peut  
 5 également servir pour immerger en même temps ou successivement un, ou, suivant sa conception, plusieurs dispositif(s) ou plaquette(s) selon l'invention. Le conteneur peut alors comprendre des moyens de fixation amovibles, par exemple des clips, du, ou des,  
 10 dispositif(s) et/ou plaquette(s) à l'intérieur de celle-ci. Si le conteneur comprend un capot, il sera de préférence suffisamment étanche pour ne pas perturber l'immersion du dispositif ou de la plaquette de l'invention, comme cela est expliqué ci-dessus.

15 Le capot peut être constitué d'un matériau tel que ceux précités pour le conteneur. Il peut être fabriqué par exemple par moulage, par emboutissage, par gravure ou par érosion mécanique, etc. Il peut ensuite être fixé définitivement sur le conteneur pour le  
 20 fermer, par exemple par collage, compression, plaquage ou par tout autre moyen connu de l'homme du métier et assurant la tenue et l'étanchéité requise pour l'utilisation de celui-ci. Il peut aussi être fixé sur le conteneur de manière amovible, toujours en assurant  
 25 la tenue et l'étanchéité requise pour l'utilisation de celui-ci, afin que le même conteneur ainsi constitué puisse servir à l'immersion successive de dispositifs ou plaquettes selon l'invention, identiques ou différents, et/ou avec différents liquides d'intérêt.

30 De préférence, le matériau du conteneur, et, le cas échéant, de son capot, est, à l'intérieur de celui-

ci (c'est à dire en regard du substrat et de sa surface active) sensiblement non mouillant vis-à-vis du liquide d'intérêt. En effet, ceci permet d'éviter que des gouttes adhèrent aux surfaces internes du conteneur, après l'extraction du liquide d'intérêt, et tombent sur la surface active et viennent gêner les analyses et réactions sur les zones de travail dans les gouttes capturées par les zones de capture. Des traitements de surface peuvent être nécessaires pour obtenir ce résultat, comme pour la surface active du dispositif de l'invention. Ces traitements peuvent être par exemple ceux précités pour la fabrication de la surface active.

Le conteneur comprend des moyens d'introduction et d'extraction du liquide d'intérêt dudit conteneur, comprenant au moins deux ouvertures. Lorsque le conteneur est fermé, il n'y a pas de limitation dans la position, la forme et la fonction de ces ouvertures autres que celles-ci : elles doivent permettre l'introduction puis l'extraction du liquide d'intérêt du conteneur ; et elles doivent être disposées de telle manière que lorsque le liquide d'intérêt est introduit dans le conteneur, il couvre la ou les zone(s) de capture, et lorsque le liquide d'intérêt est extrait du conteneur, une goutte de liquide d'intérêt reste captive par zone de capture. Le liquide d'intérêt peut entrer puis sortir du conteneur par deux ouvertures différentes. Il peut aussi entrer puis sortir du conteneur par une seule des deux ouvertures, une deuxième ouverture servant à autoriser l'extraction du liquide d'intérêt, soit en laissant passer l'air appelé par l'extraction, soit en injectant par cette deuxième

ouverture un fluide gazeux permettant de pousser le liquide d'intérêt hors du conteneur.

Les ouvertures d'introduction et d'extraction du liquide d'intérêt du conteneur peuvent être  
5 disposées sur le capot ou sur les parois du conteneur, par exemple par gravure, emboutissage, moulage, exposition à la lumière pour une résine photosensible, perçage mécanique, etc.

L'introduction du liquide d'intérêt dans le  
10 conteneur peut se faire par tout moyen approprié connu de l'homme du métier pour injecter un liquide dans un conteneur, notamment ceux utilisés dans le domaine des laboratoires sur puce et des microsystèmes. Ce moyen d'injection peut être par exemple une seringue, une  
15 pipette, une micropipette, une pompe d'injection, etc. L'extraction du liquide d'intérêt peut se faire par tout moyen approprié connu de l'homme du métier pour extraire un liquide d'un conteneur. L'essentiel est que la ou les goutte(s) capturée(s) par la zone de capture  
20 ne soient pas emportées lors de l'extraction du liquide d'intérêt.

Par exemple, selon l'invention, le moyen d'extraction du liquide d'intérêt peut être constitué d'une pompe d'injection d'un fluide gazeux par  
25 l'ouverture d'entrée de manière à extraire le liquide d'intérêt en le chassant du conteneur par l'ouverture de sortie. Avantageusement, la pompe d'injection du fluide gazeux par l'ouverture d'entrée du conteneur peut alors comprendre un dispositif de saturation du  
30 fluide gazeux injecté en vapeur de liquide d'intérêt. Cette saturation permet d'éviter ou de limiter



l'évaporation de la, ou des, goutte(s) capturée(s) par la, ou les, zone(s) de capture.

Par exemple aussi, la pompe d'extraction du liquide d'intérêt du conteneur peut être constituée d'une pompe aspirante disposée de manière à extraire le  
5 liquide d'intérêt du conteneur en l'aspirant par l'ouverture de sortie.

Le déroulement du procédé permettant la capture d'une goutte de liquide d'intérêt par zone de capture  
10 du dispositif et de la plaquette de l'invention en utilisant la boîte de travail de l'invention peut être schématisé de la manière suivante :

- remplissage total ou partiel du conteneur, ou chambre fluïdique, par le liquide d'intérêt de  
15 manière à couvrir la ou les zone(s) de capture, puis
- extraction du liquide à l'extérieur de la chambre.

Seule(s) la ou les zones de capture retiennent chacune une goutte de liquide d'intérêt, la surface  
20 active étant non mouillante.

L'utilisation du dispositif, de la plaquette ou de la boîte de travail de la présente invention peut donc faire intervenir successivement une ou plusieurs opération(s) qui se déroule(nt) collectivement, avec un  
25 ou plusieurs liquides d'intérêt, ... identiques ou ... différents, puis des opérations individuelles au niveau de chacune des gouttes formées.

Ainsi, par exemple dans une première opération, dite collective, le dispositif de l'invention permet le  
30 passage d'une veine fluïdique de liquide d'intérêt, par exemple injectée dans la boîte de travail, à une

matrice de gouttes, ou micro-volumes, indépendantes les  
unes des autres. Ensuite, des procédés de détection  
et/ou de réactions chimiques ou biochimiques connues de  
l'homme du métier peuvent être mis en oeuvre  
5 individuellement (opération individuelle), en parallèle  
ou successivement, dans chacune des gouttes capturées  
par les zones de capture.

Dans des procédés à plusieurs étapes utilisant  
le dispositif de l'invention, il n'est pas nécessaire  
10 que toutes les étapes conduisent à la formation de  
gouttes. En effet, rien n'empêche que certaines étapes  
soient réalisées en couvrant la totalité des zones de  
capture et de travail par un liquide puis en vidant la  
boîte de ce liquide de telle manière qu'il ne reste pas  
15 de gouttes captives par les zones de capture, par  
exemple par injection dans la boîte d'un gaz sous  
pression, par agitation énergétique, etc.

Sur une même zone de travail du dispositif de  
la présente invention, il est possible de capturer  
20 successivement différentes gouttes d'un ou de plusieurs  
liquides d'intérêt, grâce à la zone de capture qui  
l'entoure. Chaque liquide d'intérêt peut contenir un ou  
plusieurs réactif(s) nécessaire(s) par exemple à  
réaliser une des étapes d'un procédé de chimie ou  
25 biochimie, par exemple pour fabriquer la zone de  
travail et/ou ou effectuer des analyses. En  
conséquence, la succession des différentes gouttes sur  
une même zone de travail permet de réaliser les étapes  
successives du procédé mis en œuvre. L'ensemble de ces  
30 étapes de procédé sera donc avantageusement localisé  
sur cette zone de travail grâce à la zone de capture.

Dans des expérimentations liées à la mise en œuvre de la présente invention, les inventeurs ont noté que le dispositif de l'invention résout d'autres problèmes techniques, par rapport aux techniques de l'art antérieur, dans le domaines des laboratoires sur puce, puces biologiques et microsystemes. En particulier, il existe dans l'art antérieur un certain nombre de méthodes de greffage covalent localisé de molécules biologiques pour fonctionnaliser des surfaces de puces biologiques. Cette localisation est en général réalisée par voie chimique, photochimique ou bien électrique. Par voie chimique, l'immobilisation d'un élément biologique (sonde) se fait par dépôt localisé (« spotting ») ou synthèse in situ ce qui est contraignant en termes de temps. Par voie photochimique, il est possible de réaliser des synthèses d'oligonucléotides à l'aide de groupements photolabiles [4] : ici encore, des limitations en termes de temps de synthèse et de volumes de réactifs coûteux sont souvent rencontrées. De plus, des réactions radicalaires non sélectives peuvent avoir lieu. Par voie électrique, la synthèse d'oligonucléotides sur support solide avec groupement électro-labile rencontre les mêmes limitations. Par voie électrochimique [3], par copolymérisation de pyrrole et de pyrrole porteur d'une espèce biologique sur une électrode métallique. Cette dernière technique présente l'inconvénient de requérir des volumes importants de réactifs coûteux (pyrrole porteur de l'espèce biologique).

Le dispositif de la présente invention permet de résoudre ces nombreux problèmes de l'art antérieur.

En effet, il permet de fonctionnaliser rapidement et  
précisément des surfaces de puces biologiques, qui sont  
devenues dans la présente invention les zones de  
travail, grâce à une localisation rapide et précise du  
5 liquide d'intérêt sur la ou les zone(s) de travail, et  
un contrôle précis des densités de sondes immobilisées.  
En outre, par rapport aux procédés de l'art antérieur,  
les volumes de réactifs utilisés sont nettement moins  
importants du fait de la localisation précise de la  
10 réaction dans le volume des gouttes de réactifs  
capturées par les zones de capture. En outre, les  
expérimentations des inventeurs ont montré que le  
dispositif de la présente invention permet de  
travailler en micro-volumes indépendants les uns des  
15 autres, sans contamination croisée entre les plots de  
détection, ce qui augmente considérablement la  
précision et la reproductibilité des analyses.

Ainsi, la présente invention permet entre autre  
une mesure électrochimique ou optique en milieu  
20 confiné, dans la goutte capturée par la zone de  
capture, mais également une fonctionnalisation  
localisée sur la zone de travail par voie  
électrochimique ou chimique avec des réactifs coûteux  
(volume des réactifs restreints à la vraie zone utile  
25 formée par la zone de travail entourée par sa zone de  
capture selon l'invention).

Cette invention trouve actuellement son plus  
grand intérêt dans le cas d'un dispositif fermé, par  
exemple dans les applications laboratoire sur puce et  
30 microsystèmes. Cependant, il est à noter que cette  
invention peut également être appliquée dans le cas

d'une dispense de liquide par un robot afin de maintenir parfaitement localisé un liquide d'intérêt.

Selon l'invention, des détections de différentes molécules susceptibles d'être présentes dans le liquide d'intérêt peuvent être réalisées en 5 parallèle, simultanément ou successivement, dans différentes gouttes de liquide d'intérêt captives sur ladite surface active dans la boîte.

Selon l'invention, le, au moins un, analyte à 10 détecter peut être choisi par exemple parmi les molécules biologique ou chimique. Les molécules biologiques peuvent être choisies par exemple dans le groupe constitué par une enzyme, un substrat d'enzyme, un oligonucléotide, un oligonucléoside, une protéine, 15 un récepteur membranaire d'une cellule eucaryote ou procaryote, un virus, un anticorps, un antigène, une hormone, un métabolite d'un organisme vivant, une toxine d'un organisme vivant, un nucléotide, un nucléoside, un ADN complémentaire. La molécule chimique 20 peut être toute molécule qui doit être analysée qualitativement et/ou quantitativement.

D'autres caractéristiques et avantages apparaîtront encore à l'homme du métier à la lecture 25 des exemples qui suivent donnés à titre illustratif et non limitatif en référence aux figures annexées.

#### Brève description des figures

- Les figures 1 et 2 représentent 30 schématiquement différents dispositifs conformes à la présente invention.

- La figure 3 représente schématiquement différents modes de réalisation du dispositif de la présente invention.

5 - La figure 4 représente schématiquement un dispositif de l'invention dans lequel la zone de travail est un microsystème électrochimique.

10 - Les figures 5a) et 5b) sont deux photographie d'un dispositif selon l'invention, dans lequel la zone de travail est une microcellule électrochimique : la figure 5a) avant capture d'une goutte de liquide d'intérêt, et la figure 5b) après capture d'une goutte de liquide d'intérêt.

15 - La figure 6 est un graphique montrant la détection, au niveau d'une zone de travail, d'un produit d'une réaction enzymatique au sein d'une goutte capturée par la zone de capture correspondant à cette zone de travail dans un dispositif selon l'invention.

20 - La figure 7 représente des coupes transversales d'un mode de réalisation possible d'une boîte de travail selon l'invention.

25 - La figure 8 représente des coupes transversales d'une représentation schématique de différents modes de réalisations possibles d'une boîte de travail selon l'invention, en particulier elle représente des exemples de dispositions des ouvertures d'entrée et de sortie du liquide d'intérêt sur différentes boîtes de travail conformes à la présente invention.

30 - La figure 9 est une représentation schématique d'une plaquette selon l'invention

comportant plusieurs dispositifs selon l'invention disposés en matrice.

### EXEMPLES

5

**Exemple 1 : fabrication de surfaces actives non mouillantes selon l'invention**

Un substrat de silicium (Si) avec une couche supérieure d'oxyde de silicium ( $\text{SiO}_2$ ) de 300 nm est  
10 traité avec un silane hydrophobe (1H, 1H, 2H, 2H perfluorodécyl-trichlorosilane) pour rendre la surface hydrophobe.

Le protocole est le suivant : après traitement dans un mélange soude/eau/éthanol à 3,5 M pendant 2  
15 heures à température ambiante pour générer les sites silanols, le substrat est placé pendant 10 minutes à température ambiante dans un mélange toluène anhydre/silane hydrophobe à 9 mM en concentration de silane. Il est ensuite lavé avec du toluène puis de  
20 l'acétone, puis de l'éthanol et finalement nettoyé aux ultrasons pendant 5 minutes dans l'éthanol. Le substrat est ensuite placé dans une étuve pendant 1 heure à  $110^\circ\text{C}$ . L'angle de contact mesuré avec l'eau est de  $110^\circ$ .

25

**Exemple 2 : fabrication d'une zone de capture constituée d'un matériau support disposé sur la surface active**

Sur substrat de Si avec une couche de  $\text{SiO}_2$  de  
30 300 nm, réalisation d'étapes standard pour l'homme du métier de la microélectronique :

- dépôt de 300 nm de platine (Pt) par pulvérisation ;
- photolithographie dans une résine photosensible avec ouverture d'un motif circulaire relié à une bande d'arrivée de courants ;
- dans un réacteur à plasma, gravure ionique complète du Pt dans les zones sans résine ;
- retrait de la résine dans un bain d'acide nitrique ;
- dans un réacteur à plasma, dépôt chimique en phase vapeur de 500nm de SiO<sub>2</sub> ;
- photolithographie dans une résine photosensible avec ouverture du motif circulaire ;
- dans un réacteur à plasma, gravure ionique complète de 500nm de SiO<sub>2</sub> dans les zones sans résine ; et
- retrait de la résine dans un bain d'acide nitrique.

La figure 3a est une représentation schématique d'une zone de capture circulaire constituée d'un matériau support et entourant une zone de travail.

### **Exemple 3 : fabrication d'une zone de capture constituée de silicium noir**

Sur un substrat de Si (toutes ces étapes sont très bien connues de l'homme du métier de la microélectronique) :

- photolithographie dans une résine photosensible avec ouverture d'un motif en couronne ;



- dans un réacteur à plasma, gravure réactive ionique d'environ 3 $\mu$ m de silicium suivant le protocole décrit dans le document [11] pour former du silicium noir ;
- 5        - nettoyage de la surface en fin de gravure par passage dans un réacteur à plasma Plassys MDS 150 (société Plassis, France) avec les conditions suivantes : puissance 500W, temps de réaction 4 minutes, pression 21,33 Pa
- 10        (160 mTorr), débit d'oxygène 25cm<sup>3</sup>/min., température ambiante ; et
- retrait de la résine dans un bain d'acide nitrique.

15            Le silicium noir formé sur ces zones déterminées est fortement hydrophile, tandis que le silicium est sensiblement non mouillant vis-à-vis des liquides d'intérêt aqueux (échantillons).

20            Les figures 1 et 2 montrent schématiquement différentes zones de captures formées autour de leur zone(s) de travail. La structuration fine a été réalisée de manière à créer une bande de silicium noir, ouverte ou fermée, qui constitue la zone de capture (Zc), autour d'une zone prévue pour former la zone de

25        travail (Zt). Sur la figure 2, une zone de capture est aménagée autour de deux (à droite) ou quatre (à gauche) zones de travail.

30            La zone gravée ne nécessite pas d'autre modification chimique. Ce dispositif de l'invention est destiné à être utilisés avec des liquides d'intérêt aqueux

**Exemple 4 : fabrication d'une zone de capture sous forme d'une électrode de capture par mouillage**

**4.1 ZONE DE CAPTURE SOUS FORME D'UNE ELECTRODE DE CAPTURE :**

Sur un substrat de Si avec une couche de  $\text{SiO}_2$  de 300 nm, les étapes suivantes sont réalisées :

- $\alpha$ ) Les mêmes étapes que dans l'exemple 2 sont réalisées pour disposer une électrode (matériau support) sur la surface active.
- $\beta$ ) Réalisation de la surface active non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt sur l'ensemble du substrat pour le rendre hydrophobe comme dans l'exemple 1. L'électrode est ensuite nettoyée par voie chimique avec une solution de soude/eau/éthanol. Pour ce faire, une goutte d'un mélange soude/eau/éthanol à 3,5 M est déposée sur les électrodes pendant 2 heures à température ambiante. Les électrodes sont ensuite lavées à l'eau puis séchées.
- $\gamma$ ) Dans des expérimentations supplémentaires, une barrière hydrophile a été réalisée sur l'électrode par électropolymérisation en conditions potentiostatiques d'un pyrrole porteur de fonctions alcools (fonctions mouillantes vis-à-vis d'un liquide d'intérêt aqueux) en position 3. Ce polypyrrole est généré à partir d'une solution de pyrrole-3-éthanol 100 mM et de perchlorate de lithium ( $\text{LiClO}_4$ ) 0,5 M. Un potentiel de 1 V vs  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$  est appliqué pendant 5 secondes.

L'angle de contact mesuré avec l'eau sur l'électrode est de 53°.

La figure 3a est une représentation schématique d'un dispositif selon l'invention obtenu en utilisant le protocole de cet exemple. Sur cette figure, la zone de capture (Zc), entourant la zone de travail (Zt), est formée par une électrode recouverte d'un polypyrrole porteur de fonctions mouillantes (fonctions alcools).

#### 4.2 ZONE DE CAPTURE SOUS FORME D'UNE BANDE MOUILLANTE :

Sur un substrat de Si avec une couche de SiO<sub>2</sub> de 300nm, les étapes suivantes ont été réalisées :

- a) Réalisation de la surface active non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt sur l'ensemble du substrat pour le rendre hydrophobe comme dans l'exemple 1.
- b) Photolithographie dans une résine photosensible de type négative (référence NFR-015 du fournisseur Shipley) avec une ouverture d'un motif en couronne, pour former la zone de capture (ou bande mouillante) ;
- c) Destruction du silane hydrophobe dans les motifs ouverts de la résine photosensible par passage dans un réacteur à plasma Plassys MDS 150 (société Plassys, France) avec les conditions suivantes : puissance 500W, temps de réaction 4 minutes, pression 21,33 Pa (160 mTorr), débit d'oxygène 25cm<sup>3</sup>/min., température ambiante ; et

5 e) Réalisation de la zone de capture par silanisation avec un silane porteur de fonctions amines (fonctions mouillantes pour le liquide d'intérêt aqueux). Le substrat est placé dans une solution de  $\epsilon$ -aminopropyl triéthoxysilane à 10% en volume dans l'éthanol. Après une nuit à température ambiante, le substrat est lavé à l'éthanol et enfin laissé pendant trois heures dans une étuve à 110°C.

10

**Exemple 5 : Fabrication d'une zone de travail fonctionnalisée par une sonde selon l'invention**

15 Dans cet exemple, une puce comprenant quatre électrodes est fabriquée et utilisée. Sur un substrat de Si avec une couche de  $\text{SiO}_2$  de 300 nm, réalisation d'étapes standard pour l'homme du métier de la microélectronique :

- dépôt de 300 nm de platine (Pt) par pulvérisation ;
- 20 - photolithographie dans une résine photosensible avec ouverture des motifs de la microcellule, de l'électrode de capture et des bandes d'arrivée de courants ;
- dans un réacteur à plasma, gravure ionique
- 25 complète du Pt dans les zones sans résine ;
- retrait de la résine dans un bain d'acide nitrique ;
- dans un réacteur à plasma, dépôt chimique en phase vapeur de 500nm  $\text{SiO}_2$  ;

- photolithographie dans une résine photosensible avec ouverture des motifs des électrodes de la microcellule et de l'électrode de capture ;
- dans un réacteur à plasma, gravure ionique complète de 500nm de  $\text{SiO}_2$  dans les zones sans résine ; et
- retrait de la résine dans un bain d'acide nitrique.

10 L'électrode de travail (We), la contre-  
électrode (CE) et l'électrode annexe utilisée pour  
former la zone de capture (Zc) sont en platine (dépôt  
5000 Å environ) (voir fig. 4).

15 Une électrode de référence  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$  (Rf) est  
également présente. Cette électrode est obtenue par  
dépôt d'argent sur le platine avec le protocole  
suivant :

- préparation de 10 ml de solution contenant  $\text{AgNO}_3$  0,2 M,  $\text{Kl}$  2 M,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,5 mM ;
- 20 - un potentiel de -0,65 V vs ECS (électrode au calomel saturé) est imposé pendant 90 secondes (suivi par chronoampérométrie) sur l'électrode de référence. Un dépôt gris/blanc est obtenu. La zone de travail est ensuite rincée à l'eau ;
- 25 et
- la zone de travail avec l'électrode modifiée précédemment est plongée dans une solution de  $\text{HCl}$  0,1 M et on impose un potentiel de 0,5 V vs ECS pendant 30 secondes pour chlorer le dépôt
- 30 d'argent. Le substrat est ensuite rincé à l'eau.

L'ensemble des zones de travail a été silanisé avec un silane hydrophobe suivant le protocole décrit dans l'exemple 1.

La barrière hydrophile est réalisée sur l'électrode de capture selon le protocole décrit dans l'exemple 4.1-e.

La contre-électrode (CE) est ensuite fonctionnalisée avec un copolymère conducteur pyrrole/pyrrole fonctionnalisé en position 1 par la fonction biologique (ici un oligonucléotide sonde) [5]. L'électropolymérisation est localisée sur la contre-électrode de la zone de travail.

Pour tester cette zone de travail, l'oligonucléotide sonde est hybridé avec un oligonucléotide cible (100 pM) porteur d'un marqueur enzymatique (HRP "Horse Radish Peroxidase") dans un tampon (NaCl 1 M/Tris 10 mM/EDTA 1 mM/Triton X100 0,05%). Après des lavages dans le même tampon mais sans triton, la solution de révélation (OPD + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + tampon phosphate-citrate 50 mM) est introduite sur le dispositif de la présente invention puis aspirée. Une fraction de liquide est bien laissée de manière localisée sur la zone de travail comme le montrent les photographies de la figure 5 :

- à gauche, avant que le dispositif ne soit recouvert de la solution de révélation, on distingue le dispositif de la présente invention sans la goutte ; et  
- à droite, après que la solution de révélation ait été aspirée, on distingue le dispositif de la présente invention ayant capturé grâce à sa zone

de capture (bande hydrophile) une goutte de la solution de révélation.

Après 5 minutes de révélation, le produit enzymatique est détecté par voltampérométrie pulsée différentielle sur l'électrode de mesure (WE). Les résultats de cette détection sont représentés par le graphique de la figure 6 annexée.

La figure 4 est une représentation schématique d'une microcellule électrochimique d'un dispositif selon l'invention obtenu en utilisant le protocole de cet exemple. Sur cette figure, la zone de travail est constituée de l'électrode de mesure ou électrode de travail (WE), du polymère conducteur porteur de l'oligonucléotide (Po) déposé sur la contre-électrode (CE) et de la zone de capture (Zc) formée par l'électrode la plus externe sur laquelle le polymère porteur des fonctions alcools a été déposé (Pm). L'ensemble est réalisé sur la surface active (Sa) non mouillante.

20

**Exemple 6 : Fonctionnalisation localisée de zones de travail de puces selon l'invention avec un réactif coûteux**

Dans cet exemple, on utilise un système à quatre électrodes dont la surface a été rendue hydrophobe comme dans l'exemple 5. La barrière hydrophile et le greffage de la molécule biologique sont réalisés avec le protocole suivant :

A) réalisation de la barrière hydrophile qui constitue la zone de capture : la barrière

30

hydrophile est réalisée comme dans l'exemple 4.1.

5 B) introduction sur le composant de la solution électrolytique contenant le pyrrole, le pyrrole fonctionnalisé par un oligonucléotide et l'électrolyte support  $\text{LiClO}_4$  0,1 M. La solution est aspirée laissant ainsi une goutte de la solution électrolytique bien localisée sur la zone de travail (microcellule électrochimique) 10 donnant le même résultat que celui qui est montré sur la photographie de droite de la figure 5. L'électropolymérisation est alors réalisée sur la contre-électrode en conditions potentiostatiques (1 V vs  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ ) pendant 15 2 secondes. Le polypyrrole porteur de l'oligonucléotide est ainsi déposé sur la zone de travail exclusivement.

20 Le dispositif de l'invention permet donc bien d'économiser les réactifs notamment lors d'une fonctionnalisation d'une grande surface comprenant plusieurs dispositifs électrochimiques indépendants répartis sur cette surface, et donc aussi pour confiner le réactif sur la zone d'électrodes d'une puce complète 25 selon l'invention.

Il est également possible de réaliser ainsi un système dans lequel la bande mouillante (zone de capture) entoure un ensemble de microcellules électrochimiques, c'est-à-dire plusieurs zones de 30 travail, par exemple comme sur la figure 2.



## Exemple 7 : Fabrication d'une boîte selon l'invention et fonctionnement de cette boîte

### 7.1 Fabrication de la boîte

Un capot creux en polydiméthylsiloxane (PDMS) est fabriqué par moulage sur un moule en verre avec un motif carré en surépaisseur de 1 mm.

Sur un dispositif de la présente invention plan comme ceux obtenus dans les exemples précédents, ce capot creux est fixé de manière hermétique par collage avec de la colle réticulant par insolation aux rayons ultraviolets (VITRALIT 6181). Les connexions pour les entrées et sorties des fluides sont réalisées par perçage du capot avec des aiguilles de faible diamètre. L'aiguille d'entrée est reliée à des tubes de transport de fluide et à une seringue pleine du liquide d'intérêt. L'ensemble final est testé pour détecter d'éventuelles fuites, sachant que le liquide doit passer uniquement par les connexions prévues à cet effet.

La figure 7 est une représentation schématique de la boîte telle obtenue dans cet exemple. D'autres dispositions des connexions d'entrée et de sortie peuvent facilement être réalisées, et la figure 8 reprend des représentations schématiques des boîtes qui peuvent être obtenues suivant le protocole décrit dans cet exemple.

Sur cette figure 8, B1, B2 et B3 représentent trois types de boîtes selon l'invention avec des ouvertures d'entrée (o) et de sortie (s) placées différemment. Sb, Sa, Zc, Zt ont la même signification que sur les figures précitées. les différents éléments

qui la constituent la boîte de l'invention sont représentés de la même manière sur les trois schémas.

La figure 9 est une représentation schématique vue du dessus d'une plaquette P selon l'invention qui est utilisée pour fabriquer une boîte selon l'invention. Cette plaquette comporte 81 zones de capture et zone de travail correspondantes agencées sur une surface active non mouillante conformément à la présente invention.

10

## 7.2 Fonctionnement de la boîte et résultats

Le fonctionnement des boîtes précitées est testé. La figure 7 représente le fonctionnement de la boîte B1 de la figure 8. Le liquide d'intérêt E est injecté dans la boîte (7a) par une des ouvertures (o) jusqu'à remplissage (7b), puis extrait par l'autre ouverture (s). Le moyen d'injection utilisé est une seringue, et le moyen d'extraction utilisé est une seringue.

20

Le remplissage de la boîte n'est pas obligatoire, l'essentiel est que les différentes zones de capture soient couvertes par le liquide d'intérêt.

Cet exemple montre qu'une matrice de gouttes (g) bien localisées sur les différentes zones de capture est obtenue grâce à ce dispositif conforme à la présente invention.

25

# Liste des références

- [1] WO 02/16023: Protogene Laboratories Inc.
- [2] US 6,040,193: Affymetrix Inc.
- [3] WO 99/03684 : Eapen Saji et col.
- 5 [4] Azek et al., *Analytical Biochemistry*, 2000, 284, 107-113.
- [5] WO 00/36145 : Commissariat à l'Energie Atomique.
- [6] WO 02/090573 : Infineon.
- [7] Junghoon Lee et al., "Electrowetting and  
10 Electrowetting-on-dielectric for microscale liquid handling", *Sensor and Actuators A* 95 (2002), 259-268.
- [8] J. Cooper et al., "Micromachining Sensor for  
Electrochemical Measurement in Subnanoliter  
15 Volumes", *Anal. Chem.* 1997, 69, 253-258.
- [9] Mengsu Yang et al., "Covalent Immobilisation of  
Oligonucleotides on Modified Glass/Silicon  
Surfaces for Solid-Phase DNA Hybridization and  
Amplification", *Chemistry Letters* 1998, 257-258.
- 20 [10] Mila Boncheva et al., "Design of Oligonucleotide  
Arrays at Interfaces", *Langmuir* 1999, 15, 4317-4320.
- [11] H. Jansen et al., "The black silicon method : a  
universal method for determining the parameter  
25 setting of a fluorine-based reactive ion etcher in  
deep silicon trench etching with profile control",  
*J. Micromech. Microeng.* 5 (1995), 115-120.
- [12] FR-A-2 818 662.
- [13] EP-B-561 722.

# REVENDICATIONS

1. Dispositif de travail comprenant :
  - un substrat comportant une surface active
  - 5 (Sa) sensiblement non mouillante vis-à-vis d'un liquide d'intérêt,
  - au moins une zone de capture (Zc) localisée d'une goutte dudit liquide d'intérêt formée sur ladite surface active,
  - 10 - au moins une zone de travail (Zt) arrangée avec la zone de capture de telle manière que la zone de travail soit recouverte au moins partiellement par la goutte du liquide d'intérêt lorsque celle-ci est capturée par ladite zone de capture,
  - 15 - des moyens d'approvisionnement en liquide d'intérêt permettant de laisser une goutte dudit liquide d'intérêt sur ladite zone de capture.
2. Dispositif selon la revendication 1, dans
- 20 lequel au moins une zone de capture a une forme ouverte ou fermée choisie parmi une forme annulaire, en étoile, en rectangle, en carré, en triangle, en ellipse, ou en polygone ayant de 4 à 20 côtés, et entoure la, au moins une, zone de travail.
- 25
3. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel une zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt entoure plusieurs zones de travail.
- 30
4. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la zone de

capture est une zone de capture chimique, électrique ou physique d'une goutte de liquide d'intérêt.

5        5. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la zone de capture est un creux de, ou une saillie sur, la surface active permettant de capturer la goutte par des forces capillaires.

10       6. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la, au moins une, zone de capture est une électrode de capture par mouillage.

15       7. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la, au moins une, zone de capture est constituée de silicium noir.

20       8. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la, au moins une, zone de capture est une électrode de capture par électro-mouillage.

25       9. Dispositif selon la revendication 6, dans lequel l'électrode de capture par mouillage est constituée d'un matériau choisi dans le groupe constitué des métaux nobles, des alliages de métaux nobles, de carbone, de graphite, d'ITO, ledit matériau étant rendu mouillant par électrodéposition sur celui-ci d'un polymère conducteur d'électricité sur lequel est fixée une fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt.

30

10. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la zone de capture est constituée d'un matériau rendu mouillant par greffage sur celui-ci d'une fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt.

11. Dispositif selon la revendication 10, dans lequel le matériau est choisi dans le groupe constitué du silicium, de l'oxyde de silicium, du verre, du nitrure de silicium, des polymères organiques ; et d'un métal ou d'un alliage métallique.

12. Dispositif selon la revendication 11, dans lequel le greffage sur le matériau est réalisé par silanisation avec un silane porteur de la fonction chimique mouillante.

13. Dispositif selon la revendication 6, dans lequel l'électrode de capture par mouillage est une électrode en or rendue mouillante par physisorption d'un thiol sur lequel est fixée une fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt.

14. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 9 à 13, dans lequel, le liquide d'intérêt étant aqueux, la fonction chimique mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt est choisie dans le groupe constitué d'une fonction alcool, alcoolate, acide carboxylique, carboxylate, acide sulfonique, sulfonate, oxyamine, hydrazine, amine, ammonium.

15. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel, le liquide d'intérêt étant aqueux, la, au moins une, zone de capture est une zone hydrophile et la surface active sensiblement non mouillante est hydrophobe.

16. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la zone de capture et la, ou les, zone(s) de travail arrangée(s) avec elle peuvent être placées dans un creux ou sur une saillie par rapport à la surface active.

17. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la, au moins une, zone de travail est une zone d'interaction électrique et/ou chimique avec ladite goutte de liquide d'intérêt capturée.

18. Dispositif selon la revendication 17, dans lequel la, au moins une, zone de travail est une microcellule électrochimique.

19. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, dans lequel la, au moins une, zone de travail est une zone de détection d'au moins une espèce chimique ou biologique susceptible d'être présente dans la goutte de liquide d'intérêt lorsqu'elle est capturée.

20. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, dans lequel la, au moins une,

zone de travail est une zone fonctionnalisée par une sonde destinée à interagir avec une cible susceptible d'être présente dans la goutte de liquide d'intérêt lorsqu'elle est capturée.

5

21. Dispositif selon la revendication 18 lorsqu'elle dépend de l'une quelconque des revendications 6, 9 à 14, dans lequel l'électrode de capture d'une goutte de liquide d'intérêt par mouillage  
10 sert également d'électrode pour le fonctionnement de la microcellule électrochimique de la zone de travail.

22. Dispositif selon la revendication 17 ou 18 lorsqu'elle dépend de la revendication 9, dans lequel  
15 l'électrode de capture d'une goutte de liquide d'intérêt par mouillage sert également d'électrode pour le fonctionnement de la microcellule électrochimique de la zone de travail, et dans lequel ladite électrode est fonctionnalisée par une sonde destinée à interagir avec  
20 une cible susceptible d'être présente dans la goutte de liquide d'intérêt.

23. Dispositif selon la revendication 22, dans lequel la sonde est fixée sur le polymère conducteur  
25 d'électricité porteur d'une fonction mouillante.

24. Dispositif selon la revendication 9, 22 ou 23, dans lequel le polymère conducteur d'électricité est choisi dans le groupe constitué du polypyrrole, de  
30 la polyaniline, du polyazulène, d'un polythiophène, d'un polyindole, d'un polyfurane, d'un polyfluorène.



25. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 20, 22 à 24, dans lequel la sonde est choisie dans le groupe constitué par une enzyme, un substrat d'enzyme, un oligonucléotide, un oligonucléoside, une protéine, un récepteur membranaire d'une cellule eucaryote ou procaryote, un anticorps, un antigène, une hormone, un métabolite d'un organisme vivant, une toxine d'un organisme vivant, un polynucléotide, un polynucléoside, un ADN complémentaire.

26. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans lequel la, au moins une, zone de travail est un capteur choisi dans le groupe constitué des capteurs optiques, électriques, magnétiques, électrostatiques, mécaniques, thermiques et chimiques.

27. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans lequel la, au moins une, zone de travail est un actionneur choisi dans le groupe constitué des actionneurs optiques, électriques, magnétiques, électrostatiques, mécaniques, thermiques et chimiques.

28. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel la, au moins une, zone de travail est une zone sensiblement non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt.

29. Dispositif selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la surface active est une surface constituée d'un matériau choisi dans le groupe constitué du silicium ; de l'oxyde de silicium ; du verre ; du nitrure de silicium ; d'un polymère organique ; d'un métal ou d'un alliage métallique.

30. Plaquette de travail comprenant plusieurs dispositifs de travail identiques ou différents selon l'une quelconque des revendications 1 à 29.

31. Plaquette de travail selon la revendication 30, dans laquelle les dispositifs de travail forment une matrice.

32. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 29, ou plaquette selon la revendication 30 ou 31, dans lequel les moyens permettant de laisser une goutte de liquide d'intérêt sur ladite zone de capture localisée est un dispenseur d'une goutte de liquide d'intérêt par zone de capture.

33. Boîte de travail comprenant :

- un conteneur comprenant des moyens pour l'introduction d'un liquide d'intérêt dans le conteneur et d'extraction de liquide d'intérêt du conteneur,
- un dispositif de travail selon l'invention ou une plaquette selon l'invention, placé(e) dans ledit conteneur,

les moyens d'introduction et d'extraction du liquide d'intérêt du conteneur étant disposés de telle manière que lorsque le liquide d'intérêt est introduit dans le conteneur, il couvre la, au moins une, zone(s)  
 5 de capture, puis lorsque le liquide d'intérêt est extrait du conteneur, une goutte de liquide d'intérêt reste captive par ladite zone de capture.

34. Boîte de travail selon la revendication 33,  
 10 dans lequel les moyens d'extraction du liquide d'intérêt du conteneur sont constitués d'une pompe d'injection d'un fluide gazeux par une ouverture d'entrée de manière à extraire le liquide d'intérêt en le chassant du conteneur par une ouverture de sortie.

15 35. Boîte de travail selon la revendication 34, dans lequel la pompe d'injection du fluide gazeux par l'ouverture d'entrée du conteneur comprend un dispositif de saturation du fluide gazeux injecté en  
 20 vapeur du liquide d'intérêt.

36. Boîte de travail selon la revendication 33, dans lequel les moyens d'extraction de liquide d'intérêt du conteneur sont constitués d'une pompe  
 25 aspirante disposée de manière à extraire le liquide d'intérêt du conteneur en l'aspirant.

37. Système comprenant un ou plusieurs dispositif(s) de travail selon l'une quelconque des  
 30 revendications 1 à 29, ou une plaquette selon la revendication 30 ou 31.

38. Système comprenant une boîte de travail selon l'une quelconque des revendications 33 à 36.

5 39. Puce biologique comprenant un dispositif de travail selon l'une quelconque des revendications 1 à 29, ou une plaquette selon la revendication 30 ou 31.

10 40. Puce biologique selon la revendication 39, ladite puce étant choisie dans le groupe constitué des puces à acide nucléique, à anticorps, à antigènes, à protéine et à cellules.

15 41. Boîte comprenant une puce biologique selon la revendication 39 ou 40.

42. Procédé de fabrication d'un dispositif selon la revendication 1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

20 - fournir un substrat comportant une surface choisie pour devenir la surface active,

- structurer la surface choisie du substrat afin de former sur celle-ci une zone de travail,

25 - appliquer un traitement sur la surface choisie afin de la rendre sensiblement non mouillante vis-à-vis du liquide d'intérêt auquel le dispositif est destiné, et

30 - structurer la surface choisie afin de former une zone de capture d'une goutte de liquide d'intérêt,



les étapes de structuration de la surface pour former une zone de travail et de structuration de la surface pour former la zone de capture étant réalisées afin que la zone de travail soit arrangée avec la zone de capture de telle manière que lorsque la zone de capture capture une goutte de liquide d'intérêt la zone de travail soit recouverte au moins partiellement par ladite goutte.

10

1 / 4

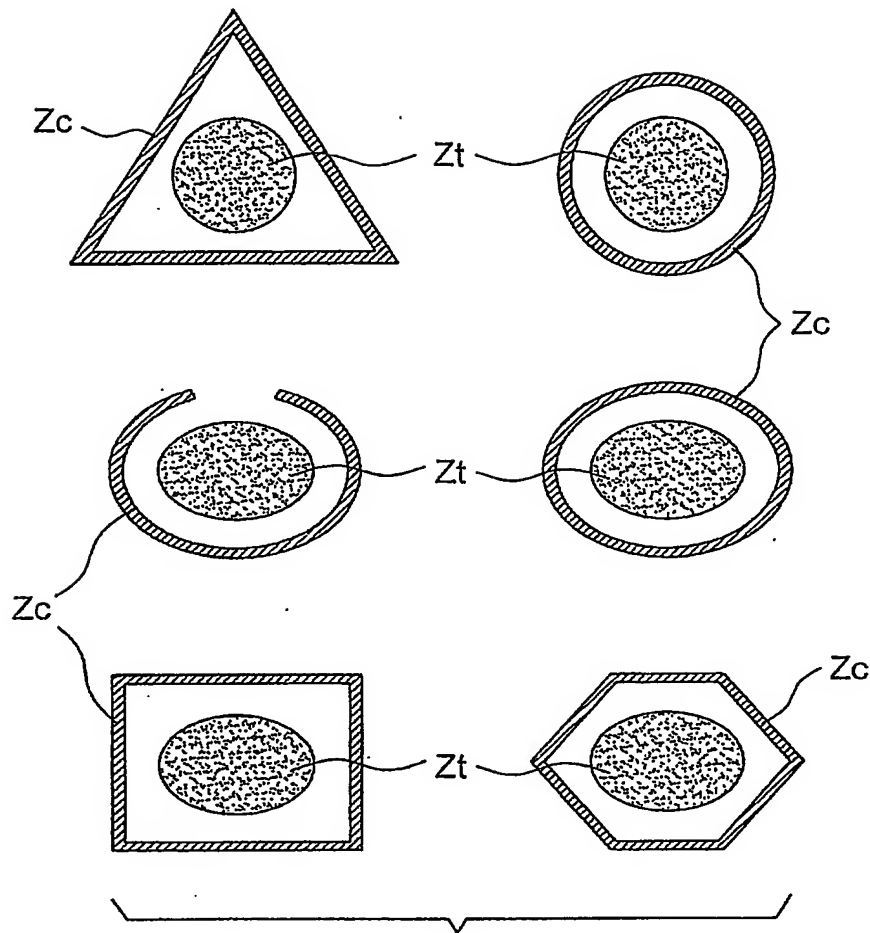


FIG. 1

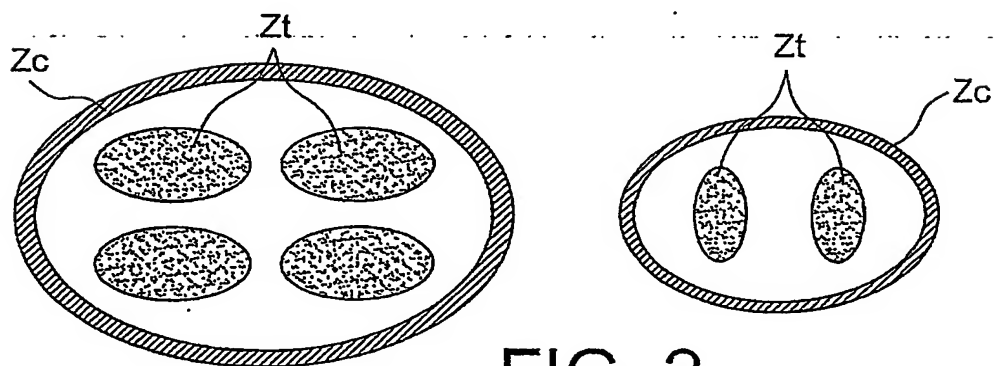


FIG. 2

2 / 4

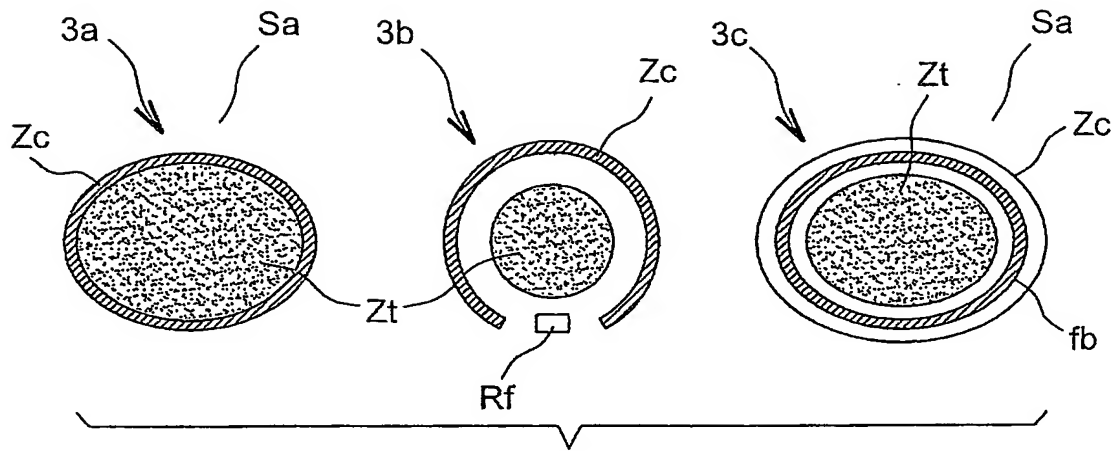


FIG. 3

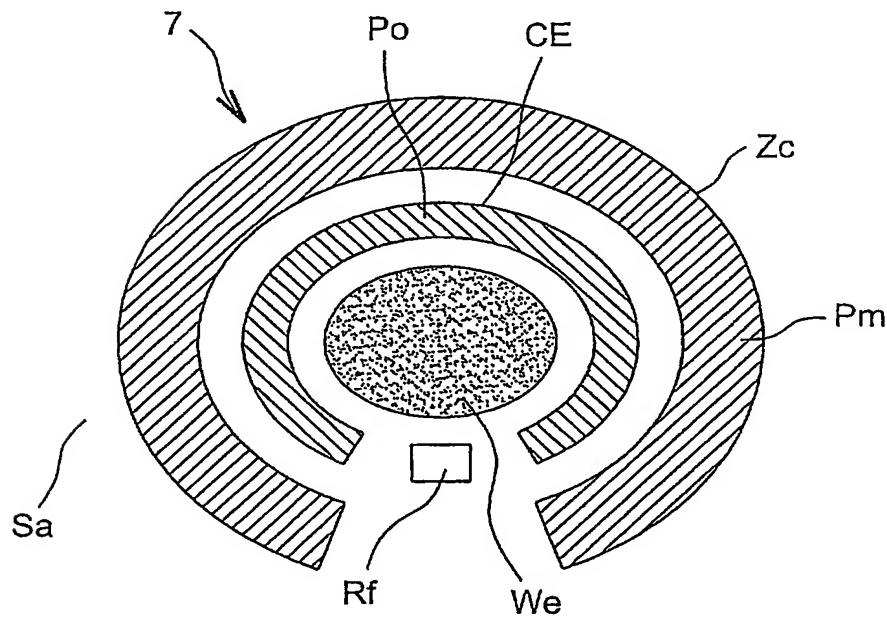
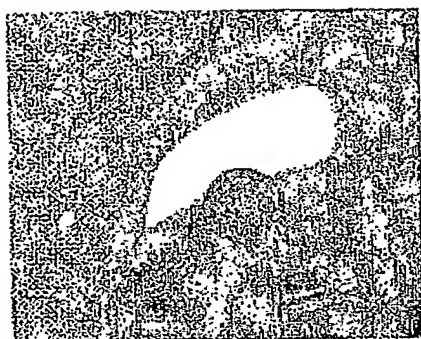


FIG. 4

3 / 4

BEST AVAILABLE COPY



(a)



(b)

FIG. 5

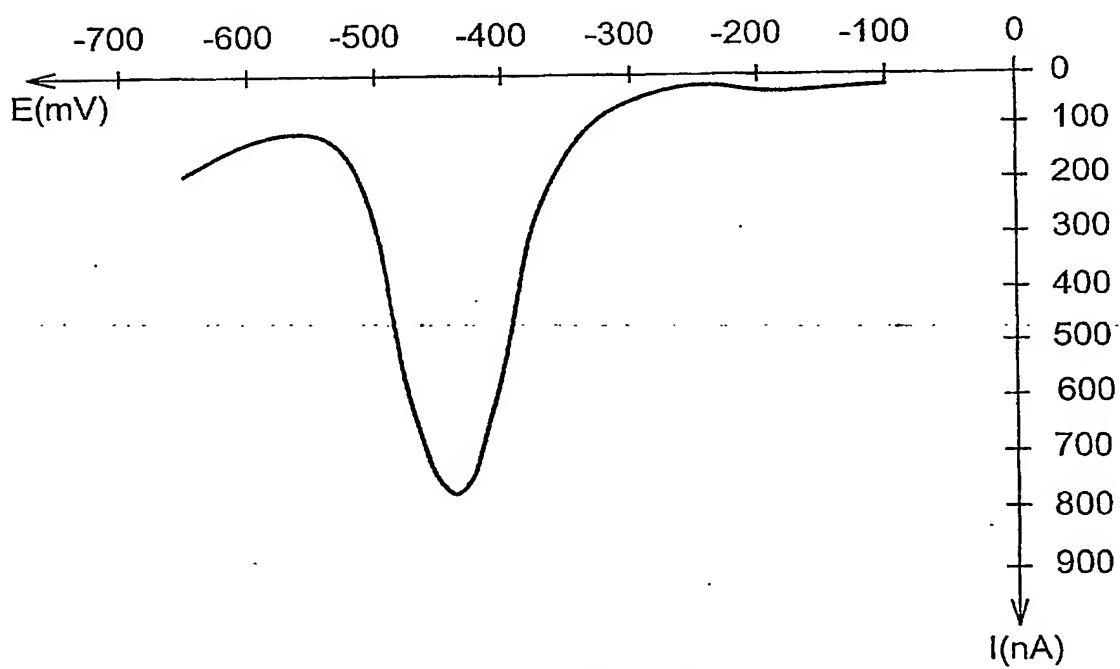
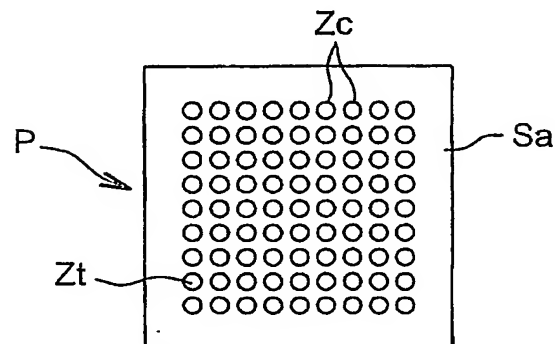
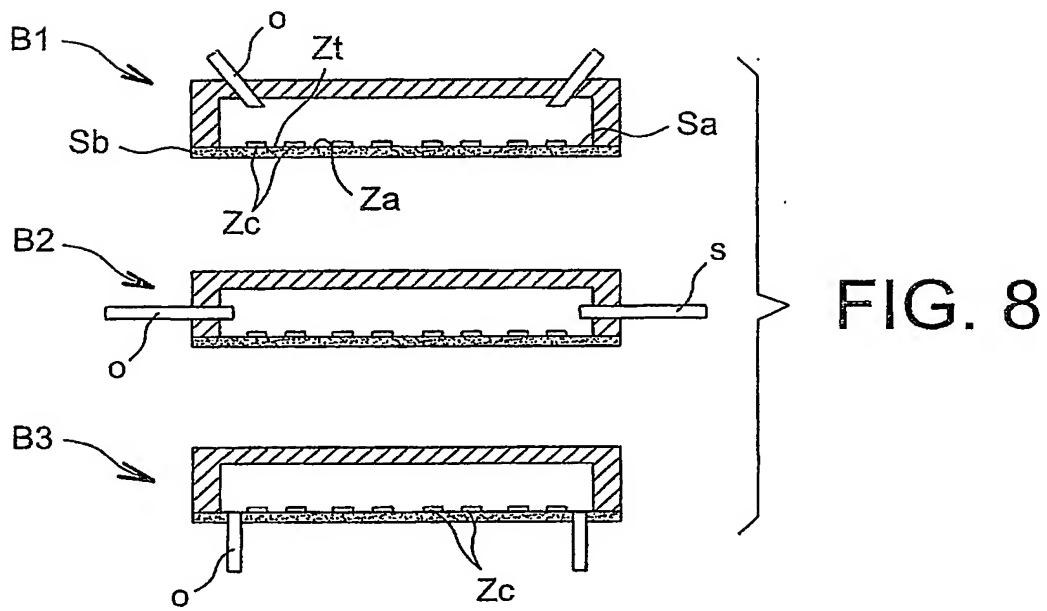
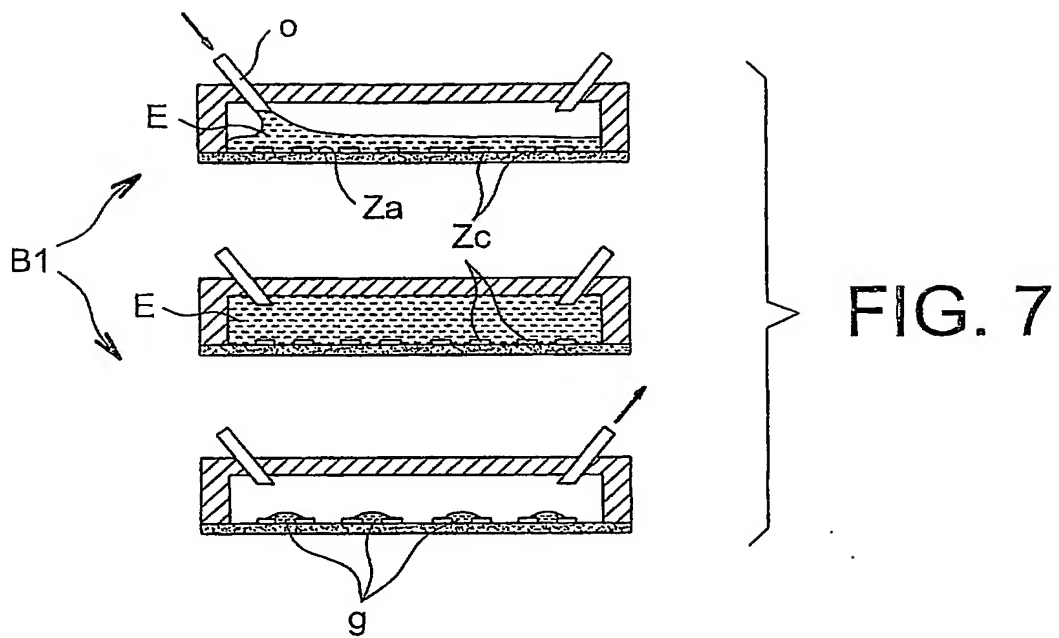


FIG. 6



4 / 4





# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

## Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	B 14427 EE DD 2591
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION	
	DISPOSITIF DE TRAVAIL COMPRENANT UNE ZONE LOCALISEE DE CAPTURE D'UNE GOUTTE D'UN LIQUIDE D'INTERET
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	MARCHAND
Prénoms	Gilles
Rue	1, rue Traversine
Code postal et ville	38350 LA MURE
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	DELATTRE
Prénoms	Cyril
Rue	33, avenue Jeanne d'Arc
Code postal et ville	38100 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 3	
Nom	POUTEAU
Prénoms	Patrick
Rue	10, allée Château Corbeau
Code postal et ville	38240 MEYLAN
Société d'appartenance	
Inventeur 4	
Nom	CAILLAT
Prénoms	Patrice
Rue	10, rue de Provence
Code postal et ville	38130 ECHIROLLES
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J. Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record.**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**